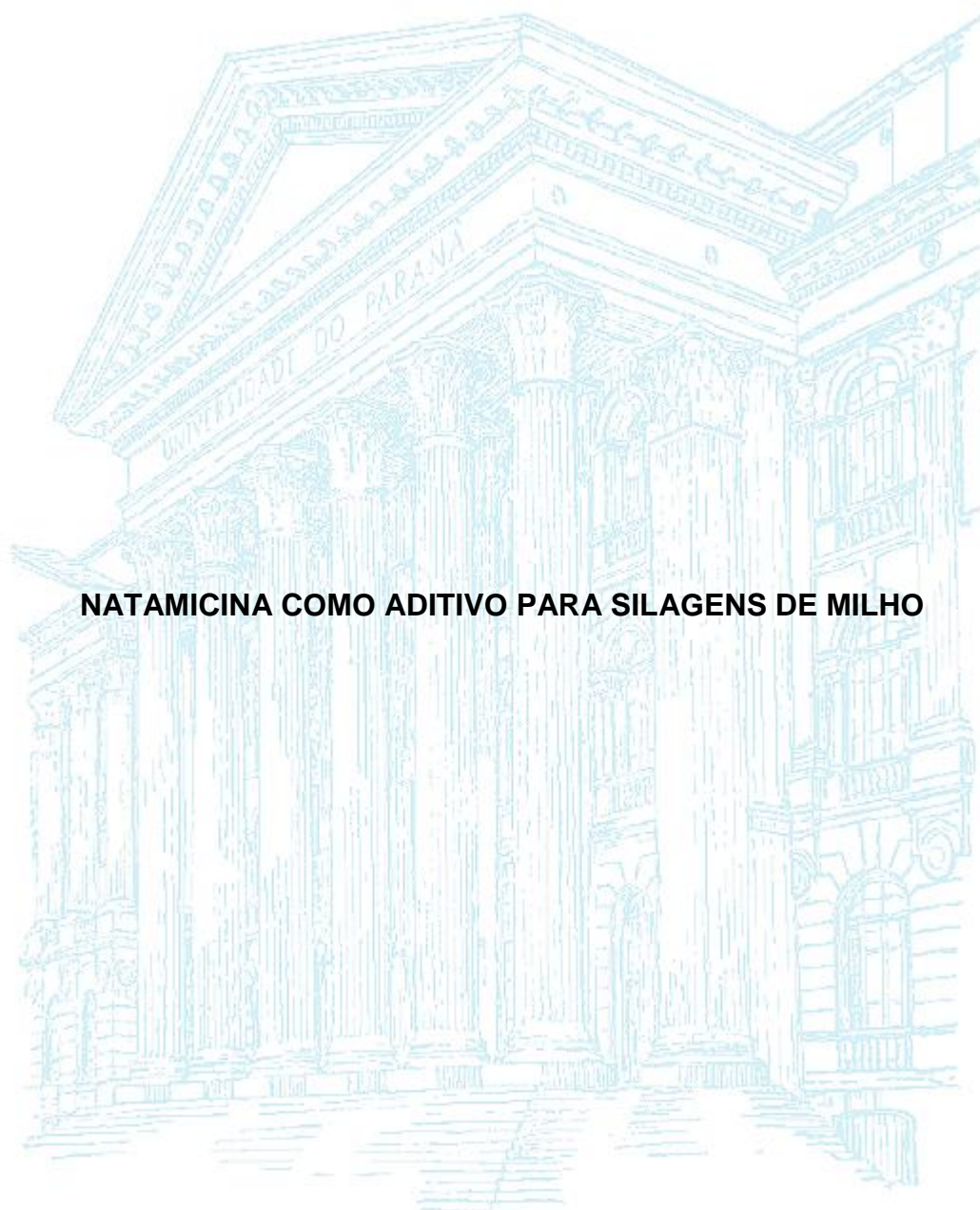


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SEVERINO PINTO



NATAMICINA COMO ADITIVO PARA SILAGENS DE MILHO

CURITIBA

2014

SEVERINO PINTO
MÉDICO VETERINÁRIO

NATAMICINA COMO ADITIVO PARA SILAGENS DE MILHO

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Nutrição e Alimentação Animal, do Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador:
Prof. Dr. Patrick Schmidt

Co-Orientador:
Prof. Dr. José Francisco Ghignatti Warth

CURITIBA

2014

P659 Pinto, Severino

Natamicina como aditivo para silagens de milho. / Severino
Pinto. – Curitiba: 2014
108 f. il.

Orientador: Patrick Schmidt

Co-orientador: José Francisco Ghignatti Warth

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná.
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias – Nutrição e Alimentação Animal.

1. Forragem - Conservação. 2. Ensilagem. 3. Nutrição animal.
I. Schmidt, Patrick. II. Warth, José Francisco Ghignatti.
III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Nutrição
e Alimentação Animal. IV. Título

CDU 636.085.517

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**PARECER**

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **“NATAMICINA COMO ADITIVO PARA SILAGENS DE MILHO”** apresentada pelo Mestrando **SEVERINO PINTO** declara ante os méritos demonstrados pelo Candidato, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou o candidato Aprovado para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

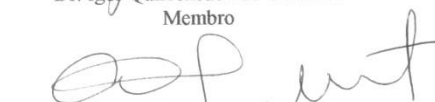
Curitiba, 27 de fevereiro de 2014



Professor Dr. Patrick Schmidt
Presidente/Orientador



Dr. Igor Quirrenbach de Carvalho
Membro



Professora Dra. Alda Lúcia Gomes Monteiro
Membro

*“Seu trabalho vai preencher boa parte da sua vida,
e a única maneira de ser verdadeiramente satisfeito
é fazer o que acredita ser um ótimo trabalho.
E a única maneira de fazer um ótimo
trabalho, é amar o que você faz.”*

Steve Jobs

Aos meus queridos pais, Serafim e Rose Marlene, por todo incentivo que sempre me deram aos estudos, pelo amor, e conselhos nas minhas diversas indecisões, apoio e compreensão em todos os momentos.

Minha Eterna Gratidão

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar força e segurança em lutar nos momentos mais difíceis da minha vida, por me mostrar a luz em minhas decisões, por me dar uma família que amo tanto e por todas as pessoas que me colocastes em meu caminho, proporcionando grandes experiências de vida e momentos jamais esquecidos.

Aos meus Irmãos **Maísa e Serineu**, que apesar das rugas e discussões não posso pensar em viver sem vocês.

À minha vó **Amanda**, tios, tias, primos e todos os meus familiares pelo incentivo, amizade e conselhos, em especial a tia **Zilda**, pelo cuidado que teve por mim durante essa jornada, sendo a minha “Mãe de Curitiba”. Agradeço muito a Deus por ter me dado essa família que traz grandes recordações. Do fundo do meu coração, amo a todos vocês!

Ao Prof. **Patrick Schmidt**, primeiramente pela sua confiança em me aceitar como orientado, pelos seus grandes ensinamentos de cooperação, amizade, incentivo e pelo seu estilo paternal de nos mostrar os caminhos que devemos traçar, são exemplos que levarei por toda a minha vida. Um agradecimento especial a sua esposa **Marcela** pela sua grande amizade.

Ao Prof. **José Francisco G. Warth**, por me aceitar como co-orientado, pelos grandes ensinamentos técnicos e pessoais, momentos de descontração e concentração para solucionar problemas momentâneos enfrentados. Tenho certeza que esses momentos me tornaram mais experiente para minha vida profissional e pessoal.

Ao Prof. **Rodrigo de Almeida**, pelo seu caráter e generosidade concedidos durante o meu ingresso no mestrado, por fazer parte do comitê de orientação com valiosas orientações, além de sua grande disposição em repassar sua experiência técnica como professor. Grande Abraço!

Ao Prof. **Rodrigo A. Teixeira**, Profa. **Laila T. Dias**, Prof. **Marson B. Warpechowski** e Prof. **Henrique S. Koehler** pela preciosa ajuda nas análises estatísticas.

Ao Prof. **Paulo Rossi Jr.**, Profa. **Simone G. de Oliveira**, Profa. **Cybelle de Souza** pelos conhecimentos repassados e conversas descontraídas.

À Profa. **Alda Lúcia Gomes Monteiro**, pela sua generosidade, confiança, incentivo e principalmente pela sua amizade prestada durante essa trajetória. Pela sua forma de trabalho, mostrando que com respeito e cooperação, o ambiente de trabalho torna mais agradável para todos.

Aos Pós Doutorandos **Claudio Araújo** e **Odilei Prado** pelos grandes conselhos e boas conversas nos momentos em que estive no LAPOC.

A todos os estagiários que foram muitos durante essa trajetória, e foram pessoas de extrema importância para a realização desse trabalho, proporcionando ótimos momentos de convívio intenso, trabalho duro e descontração, em especial aos grandes amigos **Carlos Kulik** e **Fernanda** (Ronaldão), pelos ótimos momentos que estivemos juntos, com conversas super descontraídas e risadas intermináveis. Desejo a todos um futuro promissor e que Deus os proporcione conhecer pessoas inesquecíveis, como eu conheci neste tempo, estando ao lado de vocês.

À Profa. **Maity Zopollatto** pela recente amizade, incentivo, orientação e correção dos trabalhos, em especial ao seu esposo **Adir de Sá** pela amizade e bons momentos em experimentos.

Aos grandes amigos e colegas do mestrado, **Emanuella**, **Elinton**, **Gislaine**, **Fernando**, **Lívia**, **Maria Angela**, **Geisa** e recentemente **Bleine** e **Camilla**, pela amizade, companheirismo e pelos bons momentos em que estivemos juntos.

Ao grande amigo de mestrado **Charles Novinski**, pela sua amizade, apoio nos experimentos, enfrentando intempéries do tempo, com um único objetivo: Não parar o experimento. Pelas boas conversas e trabalhos diversos que fizemos juntos. Um amigo que jamais esquecerei. Um Forte Abraço!

A **CAPES** e ao programa **REUNI** pela bolsa concedida.

Aos secretários do Departamento de Zootecnia e Programa de Pós-graduação **Oswaldo** e **Maria José** pelo auxílio e conversas, estando sempre dispostos a ajudar.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal da UFPR, pela ajuda na realização das análises, dedicação, conversas e bons momentos que estive lá.

À grande amiga e professora, **Carina Simionato de Barros** pelo incentivo incondicional no meu ingresso ao mestrado, em publicações na área. Grande Abraço!

Ao Prof. **Luis Carlos Leite** pela carta de recomendação concedida ao Programa de Pós-graduação.

Aos animais, em especial aos cordeiros que proporcionaram um ótimo trabalho durante essa fase da minha vida.

A todos aqueles que, embora aqui não mencionados, mas que de sobremaneira estiveram presentes em mais essa conquista de minha vida. O meus sinceros agradecimentos.

MUITO OBRIGADO!

NATAMICINA COMO ADITIVO PARA SILAGENS DE MILHO

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o aditivo químico (natamicina) na ensilagem de milho (*Zea mays*), considerando a aplicação do aditivo sobre a composição químico-bromatológica, perdas fermentativas, contagem de leveduras, estabilidade aeróbia e desempenho de cordeiros em confinamento, avaliado mediante a comparação de diferentes doses da natamicina na ensilagem ou em combinação com o aditivo microbiano (*Lactobacillus buchneri*). A dissertação foi dividida em três capítulos. No primeiro ensaio, avaliou-se o efeito da adição da natamicina e da bactéria heterolática *L. buchneri* na ensilagem de milho. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições. As menores perdas de matéria seca foram encontradas no tratamento da natamicina com o *L. buchneri*, observando menor contagem de leveduras ($P < 0,05$) durante a estabilidade aeróbia da silagem ($P < 0,05$). O segundo capítulo teve como objetivo avaliar o uso da natamicina, na ensilagem de milho armazenada em silos horizontais tipo trincheira e em silos experimentais. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos e quatro repetições para os silos experimentais e três tratamentos e uma repetição para os silos trincheira. O teor de matéria seca das silagens do ensaio mostrou-se abaixo do ideal, pela forte característica *staygreen* do híbrido utilizado. As silagens apresentaram baixo pH, sem efeito ($P > 0,05$) do tratamento com natamicina. As perdas nos silos experimentais de matéria seca e gases durante a fermentação foram reduzidas ($P < 0,01$) nas silagens aditivadas com maior dosagem de natamicina. Os silos trincheira não apresentaram redução nas perdas de matéria seca e contagem de leveduras nas silagens. Foi verificada semelhança nas perdas médias de matéria seca dos dois tipos de silos do experimento. No terceiro capítulo, foi avaliado o desempenho de cordeiros confinados com silagem de milho aditivada com natamicina na ensilagem. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com três tratamentos e dez blocos. As silagens aditivadas não provocaram nenhum efeito de toxicidade, redução de consumo e efeitos negativos no desempenho dos cordeiros. Medidas de carcaça por ultrassom não foram

afetadas pelos tratamentos avaliados. A natamicina é um aditivo com capacidade de reduzir perdas fermentativas de matéria seca nas silagens de milho, sem causar danos no desempenho dos animais.

Palavras-chave: Desempenho animal, *Lactobacillus buchneri*, leveduras, perdas de matéria seca, pimaricina.

NATAMYCIN AS AN ADDITIVE TO CORN SILAGES

ABSTRACT

This trial aimed to evaluate the chemical additive Natamycin in corn silages (*Zea mays*), over the chemical composition, fermentative losses, yeasts count, aerobic stability and performance of feedlot lambs, by comparing different doses of natamycin or the combination with microbial additive (*Lactobacillus buchneri*). This dissertation is divided into three chapters. At first, we evaluated the addition of natamycin and heterolactic bacteria *L. buchneri* in corn silages. The trial was conducted in a completely randomized design with four treatments and four replicates. The lower dry matter and gas losses were found in combined treatment of natamycin and *L. buchneri*, showing low yeast count ($P<0.05$) during aerobic stability of silage ($P<0.05$). The second trial aimed to evaluate doses of natamycin in corn silage with low dry matter content, stored in horizontal bunker silos or experimental lab silos. The experimental design was completely randomized with three treatments and four replicates for experimental lab silos and three treatments and one replicate for bunker silos. Dry matter content of silages was below the ideal, because staygreen characteristics of hybrid. The silages showed low pH for all treatments. The DM losses and gas production of experimental silos were reduced ($P<0.01$) with higher dose of natamycin. Bunker silos showed no decrease of DM losses and yeasts counts. It was observed similarity in dry matter losses of the different silos in this trial. In the third chapter, we evaluated natamycin as additive in corn silages on performance of feedlot lambs. A completely randomized blocks design with three treatments and ten blocks was used. The addition of natamycin was not effective in reducing the yeasts counts in the silos faces. This additive did not cause any toxicity, reduced intake or negative effects on performance lambs. The body composition measured by ultrasonography was not affected by the treatments evaluated. The natamycin is a additive with capacity of reducing dry matter losses in corn silages, without affect the animal performance.

Key Words: Animal performance, dry matter losses, *Lactobacillus buchneri*, pimaricin, yeasts.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Síntese da fermentação de glicose pelas leveduras.....	25
Figura 2. Síntese da fermentação da glicose e da frutose de bactérias heterofermentativas, com ênfase na bactéria <i>Lactobacillus buchneri</i>	29
Figura 3. Síntese da degradação do ácido láctico pelo <i>Lactobacillus buchneri</i> em ácido acético, 1,2-propanediol e traços de etanol.....	30
Figura 4. Contagem média de leveduras na silagem de milho em silos tipo <i>bunker</i>	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química (% da MS) da silagem de milho após 90 dias de armazenamento.....	50
Tabela 2. População de leveduras (log 10/g MV) da silagem de milho no momento da abertura dos silos (dia 0) e após 3 e 5 dias de exposição aeróbia.....	51
Tabela 3. Resultados de perdas fermentativas na silagem de milho com 90 dias de ensilagem.....	51
Tabela 4. Valores de estabilidade aeróbia (5 dias) da silagem de milho após 90 dias de ensilagem.....	52
Tabela 5. Composição química das silagens de milho dos silos experimentais.....	71
Tabela 6. Perdas fermentativas e de estabilidade aeróbia da silagem de milho dos silos experimentais.....	72
Tabela 7. Médias e desvios padrão da composição química das silagens de milho dos silos de superfície tipo <i>bunker</i> , avaliadas semanalmente.....	72
Tabela 8. Temperaturas do painel dos silos, perda de MS e contagem de leveduras nas silagens dos silos horizontais tipo <i>bunker</i>	73
Tabela 9. Médias e desvios padrão da composição química e contagem de leveduras das silagens de milho.....	94
Tabela 10. Composição química da ração efetivamente consumida.....	95
Tabela 11. Desempenho de cordeiros confinados alimentados com diferentes silagens de milho.....	96

LISTA DE ABREVIATURAS

BAL – bactéria ácido láctica

Bt – *Bacillus thuringiensis*

cm – centímetro

CO₂ – dióxido de carbono

CPFOR – Centro de Pesquisas em Forragicultura

EA – estabilidade aeróbia

EAEMP – Agência Européia de Análises de Produtos Médicos

EE – extrato etéreo

EPM – erro padrão da média

FDA – fibra em detergente ácido

FDN – fibra em detergente neutro

g – grama

HEM – hemicelulose

K₂O – Óxido de Potássio

LAPOC – Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos

LB – *Lactobacillus buchneri*

MS – matéria seca

MV – massa verde

NaCl – cloreto de sódio

°C – graus Celsius

PB – proteína bruta

pH – potencial Hidrogeniônico

pKa – potencial de dissociação ácida

PMS – perda de matéria seca

RM – resíduo mineral

UFC – unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	18
2. REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1. SILAGEM DE MILHO	21
2.2. ESTABILIDADE AERÓBIA	23
2.2.1. <i>Leveduras</i>	24
2.3. ADITIVOS PARA SILAGEM	26
2.3.1. <i>Lactobacillus buchneri</i>	28
2.3.2. Natamicina	31
2.4. DESEMPENHO ANIMAL NOS ENSAIOS DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE DIETAS	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
CAPÍTULO I - ADIÇÃO DE NATAMICINA E <i>LACTOBACILLUS BUCHNERI</i> NA FERMENTAÇÃO, ESTABILIDADE AERÓBIA E QUALIDADE DA SILAGEM DE MILHO.....	42
RESUMO.....	42
ABSTRACT	43
3. INTRODUÇÃO	44
3.1. MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1.1. DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO.....	46
3.1.2. ANÁLISES	46
3.1.3. ANÁLISES DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA	47
3.1.4. AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE AERÓBIA.....	48
3.1.5. CONTAGEM DE COLÔNIAS DE LEVEDURAS	48
3.1.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	49
3.2. RESULTADOS.....	49
3.3. DISCUSSÃO	52
3.4. CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
CAPÍTULO II - PERDAS FERMENTATIVAS EM SILAGENS DE MILHO ADITIVADAS COM DIFERENTES DOSES DE NATAMICINA	62
RESUMO.....	62
ABSTRACT	63
4. INTRODUÇÃO	64
4.1. MATERIAL E MÉTODOS	66
4.1.1. DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO.....	66

4.1.2. ANÁLISES DE COMPOSIÇÃO QUÍMICA	69
4.1.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA	70
4.2. RESULTADOS.....	70
4.3. DISCUSSÃO	74
4.4. CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80
CAPÍTULO III - DESEMPENHO DE CORDEIROS CONFINADOS ALIMENTADOS COM SILAGENS DE MILHO ADITIVADAS COM NATAMICINA	85
RESUMO.....	85
ABSTRACT	86
5. INTRODUÇÃO	87
5.1. MATERIAL E MÉTODOS	90
5.1.1. DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO.....	90
5.1.2. ANÁLISES	93
5.1.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA	93
5.2. RESULTADOS.....	94
5.3. DISCUSSÃO	96
5.4. CONCLUSÃO	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	108

1. INTRODUÇÃO GERAL

A silagem e o feno são as principais formas de utilização de forragens conservadas. No entanto, o processo de confecção do feno é vulnerável a dificuldades relacionadas às condições climáticas e disponibilidade de equipamentos adequados. Muitas vezes a confecção de feno de qualidade é difícil, tornando a silagem um método de conservação de forragem de maior interesse.

A ensilagem é o método de conservação de forragem por um processo natural de fermentação láctica, mediada por microrganismos epifíticos e também os adicionados ao processo. Segundo Nussio e Ribeiro (2008), em algumas regiões do mundo a silagem representa somente 2% de alimentos destinados aos ruminantes. Esses mesmos autores afirmam que no Brasil a participação da silagem corresponde entre 10 e 25% do alimento volumoso. Fornecida principalmente em períodos de seca, onde há a diminuição da oferta de alimento nas pastagens e redução na capacidade de lotação das mesmas.

No processo de confecção da silagem há o envolvimento de três tipos de microrganismos: aeróbios, anaeróbios e anaeróbios facultativos. No grupo dos anaeróbios facultativos, as leveduras são os primeiros microrganismos a iniciarem o processo de deterioração aeróbia pela sua afinidade ao lactato e a glicose, sendo responsáveis por grandes perdas de matéria seca após a abertura dos silos (McDonald *et al.*, 1991).

Os aditivos aplicados na confecção de silagens têm por objetivo diminuir perdas por fermentação de microrganismos indesejáveis, melhorar o valor nutritivo e aumentar a estabilidade aeróbia. Contudo, os resultados de trabalhos de pesquisa com esses produtos são bastante variáveis.

A utilização de inoculantes na ensilagem a base de *Lactobacillus buchneri*, aumenta a capacidade fermentativa da massa, produzindo ácidos como o láctico e o acético, reduzindo o pH do material. O ácido acético produzido pelo *Lactobacillus buchneri* durante a fermentação, é capaz de controlar o crescimento de leveduras, tornando a silagem mais estável em aerobiose.

A natamicina é uma bacteriocina (antibiótico) que não possui ação antibacteriana, mas é utilizada no controle de bolores e leveduras em alimentos para o consumo humano como queijos e sucos. Sua ação no crescimento de leveduras

pode apresentar efeitos positivos no controle da deterioração aeróbia em silagens, melhorando o tempo de estabilidade do material.

Apesar de haver estudos que avaliaram a toxicidade da natamicina em animais, não são encontrados estudos que utilizem a natamicina como aditivo em silagens e o fornecimento para animais como fonte principal de volumoso.

Com base na hipótese da natamicina atuar no controle do crescimento de leveduras e por consequência reduzir os efeitos de deterioração aeróbia da silagem de milho, foi desenvolvida a presente dissertação, para avaliar seus efeitos na composição química e microbiológica das silagens, perdas por deterioração aeróbia e o desempenho de cordeiros recebendo a silagem aditivada como principal fonte de volumoso.

Para o entendimento completo sobre o assunto, a dissertação foi dividida em capítulos da seguinte forma:

Revisão Bibliográfica - Apresenta uma síntese com relação à silagem de milho, bem como os principais efeitos causados pelas leveduras na silagem após a abertura dos silos. A revisão aborda também o tema dos diferentes tipos de aditivos utilizados na produção de silagens e suas funções na qualidade do produto fermentado. É realizada uma abordagem sobre os aditivos *Lactobacillus buchneri* e a natamicina no processo de confecção de silagens. E por fim é abordada a importância da realização de ensaios de desempenho animal na avaliação de aditivos em silagens.

Capítulo I - Intitulado “**Adição de natamicina e *Lactobacillus buchneri* na fermentação, estabilidade aeróbia e qualidade da silagem de milho**”, tem como principal objetivo avaliar os efeitos da utilização da natamicina associada ao *Lactobacillus buchneri* na silagem de milho e avaliar a composição bromatológica, perdas durante o processo fermentativo, tempo de estabilidade aeróbia e contagem de leveduras após a abertura dos silos.

Capítulo II - Com o título “**Perdas fermentativas em silagem de milho aditivadas com diferentes doses de natamicina**”, apresenta o objetivo de avaliar o uso da natamicina, como aditivo na ensilagem de milho com baixo teor de matéria seca, armazenada em silos horizontais do tipo trincheira e em silos experimentais. E determinar as perdas fermentativas, composição bromatológica e estabilidade aeróbia das silagens.

Capítulo III - Com o título **“Desempenho de cordeiros alimentados com silagens de milho aditivadas com diferentes doses de natamicina”**, tem o objetivo de verificar os efeitos da adição da natamicina na silagem de milho e avaliar o desempenho de cordeiros confinados, utilizando a silagem como fonte de volumoso.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Silagem de Milho

A ensilagem é um processo fermentativo de conservação de forragem em condições anaeróbias e com alta acidificação do material ensilado. Com um tamanho de partícula ideal e boa compactação no processo de ensilagem, em poucas horas, os microrganismos aeróbios consomem o oxigênio presente no material, transformando carboidratos solúveis (açúcar) em dióxido de carbono, calor e água. Dessa forma o ambiente se torna anaeróbio e propício para o crescimento de microrganismos que transformam açúcares em ácidos orgânicos, mantendo assim, a conservação do material ensilado (Weiss, 1996).

O principal objetivo na produção de silagem é maximizar a preservação de nutrientes da forragem no momento da colheita, para posterior alimentação animal com um volumoso de qualidade. No entanto, segundo Kung Jr. (2001), a fermentação é um processo de difícil controle, levando a uma menor preservação de nutrientes em relação ao esperado.

A preservação de nutrientes durante o processo fermentativo da silagem é decorrente da fermentação parcial das bactérias lácticas. Para obtenção de uma ação efetiva desses microrganismos, se faz necessária algumas condições como: substrato potencialmente fermentável, para sustentar o crescimento bacteriano, ausência de oxigênio atmosférico no material com objetivo de favorecer o crescimento de lactobacilos anaeróbicos, carga bacteriana suficiente de lactobacilos para que sejam rapidamente dominantes sobre outras espécies microbianas, e baixa umidade para evitar que os ácidos produzidos se diluam, favorecendo a fermentação butírica (Guim *et al.*, 2002).

Existem diversos tipos de volumosos que podem ser ensilados para alimentação de ruminantes. No entanto, o milho é uma das forragens mais utilizadas, apresentando altas quantidades de carboidratos solúveis, que facilitam a fermentação por bactérias anaeróbias. Segundo Deminiciis *et al.* (2009), a qualidade bromatológica da planta de milho favorece a produção de silagem, devido suas características como teor de matéria seca (MS) entre 30% e 35%, carboidratos solúveis na concentração de 3% na matéria original e baixo poder tampão, proporcionando boa fermentação microbiana.

Além de boa qualidade fermentativa, a utilização da silagem de milho em confinamentos de acordo com Ribeiro *et al.* (2002), proporciona um desempenho desejável na engorda dos animais com baixo custo, sendo a principal escolha entre pecuaristas para fonte de volumoso. Costa *et al.* (2002) observaram maior ganho de peso e ganho médio diário de bezerros confinados utilizando como principal fonte de volumoso a silagem de milho em relação ao feno de aveia.

A silagem de milho com o seu alto valor nutritivo garante um alimento nobre para a produção animal. O alimento conservado com presença de altas quantidades de carboidratos solúveis possui uma grande capacidade de produção de ácido lático durante a fermentação, no entanto, torna-se mais susceptível à deterioração aeróbica pelas leveduras (Siqueira *et al.*, 2005).

Na atualidade, a produção de silagens de milho com híbridos geneticamente modificados vem aumentando em grande escala, principalmente com o milho Bt. Este tipo de milho contém gene da bactéria *Bacillus thuringiensis* confere resistência ao ataque de pragas, reduzindo por sua vez os custos com a aplicação de defensivos agrícolas.

Calsamiglia *et al.* (2007), em estudo conduzido na Universidade de Barcelona, compararam silagens de milho comercial versus geneticamente modificados e não verificaram diferenças na composição bromatológica das silagens, condição corporal, produção e composição de leite dos animais. Além de não ter sido encontrado moléculas geneticamente modificadas nas análises de leite, considerado um produto seguro na produção de silagens.

Da mesma forma, híbridos de milho com característica “*staygreen*” vêm sendo utilizado na produção de silagens. Segundo Arriola (2006), o termo “*staygreen*” é utilizado para plantas de milho que possuem período de senescência atrasado, maior resistência a doenças e janela de corte mais extensa quando comparado a híbridos convencionais. Fakorede e Mock (1980) afirmam que a produção de matéria seca do milho *staygreen* pode ser maior em relação aos milhos convencionais, por permanecerem fotossinteticamente ativos no momento do enchimento do grão. O estado de maturação do milho *staygreen* é um dos problemas encontrados para a produção de silagens (Wilkinson e Hill, 2003), em virtude da maturidade do grão não ser a mesma encontrada na porção vegetativa da planta. Havilah e Kaiser (1994) reportam que o teor de MS do milho *staygreen*, aumenta somente após o grão apresentar metade da linha do leite preenchida.

2.2. Estabilidade Aeróbia

No momento da abertura do silo, a exposição ao oxigênio atmosférico promove o desenvolvimento de microrganismos oportunistas, que iniciam sua atividade metabólica e utilizam alguns produtos da fermentação como substrato, produzindo calor. Segundo Siqueira *et al.* (2005), a produção de calor da silagem após a sua exposição em aerobiose é indicativo de um processo de deterioração aeróbia e perda de matéria seca por oxidação do material.

O tempo necessário para que a silagem ultrapasse a temperatura ambiente em 2°C é denominado tempo de estabilidade aeróbia (EA) (Kung Jr. *et al.*, 2000). Segundo Junges (2010), a EA representa a resistência da silagem ao aquecimento, podendo ser caracterizada como a fase “LAG” de multiplicação dos microrganismos aeróbios no painel do silo, ocorrendo a elevação da temperatura. Para se considerar instável uma silagem, é necessário avaliar as temperaturas acumulada e máxima, além do tempo para alcançar a máxima temperatura (Siqueira *et al.*, 2005).

Siqueira *et al.* (2005) apresentam vários fatores que afetam o tempo de estabilidade da silagem, como: pH, teores de etanol, ácido acético, láctico, carboidratos solúveis residuais e populações de fungos filamentosos e leveduras. Quando a massa da silagem é exposta em aerobiose durante a abertura do silo, populações de leveduras superiores a 100.000 Unidades Formadoras de Colônia (UFC) /g podem reduzir o tempo de estabilidade aeróbia. A densidade, o tamanho de partícula e principalmente o manejo de retirada adotado, também podem interferir na estabilidade aeróbia das silagens, devido à facilitação na entrada de oxigênio atmosférico na massa.

Bactérias heterofermentativas têm sido avaliadas buscando melhorar o tempo de estabilidade aeróbia das silagens, o que implica no controle da população de leveduras. Muck e Kung (1997) descreveram que muitos inoculantes possuem efeito benéfico na estabilidade aeróbia, considerando bactérias produtoras de ácido acético, no qual, são mais efetivas do que as produtoras de ácido láctico na inibição de leveduras e fungos, responsáveis esses, por iniciarem o aquecimento e deterioração aeróbia da silagem.

Alguns autores tem verificado que a utilização de aditivos químicos na ensilagem tem proporcionado redução nas perdas e aumento no tempo de estabilidade aeróbia (D'Urso *et al.*, 1990; Pedroso *et al.*, 2008), viabilizando a

utilização dessa classe de aditivos na melhoria da qualidade das forragens conservadas. O acompanhamento da temperatura da silagem após a abertura do silo é um elemento fundamental para se verificar a necessidade da utilização de aditivos e evitar perdas de matéria seca durante a exposição aeróbia.

2.2.1. Leveduras

Os fungos podem apresentar em seu crescimento vegetativo, duas unidades morfológicas: hifal e a levuriforme. As hifas são células extremamente polarizadas, na forma de tubos que se estendem em suas extremidades, podendo essas estruturas ser visualizadas a olho nu. Por outro lado, os levuriformes são seres unicelulares, delimitados e microscópicos. Apresentam-se na superfície do ágar em forma de colônias semelhantes às de bactérias, sendo observadas também cores variadas e com aspecto céreo brilhante quando isoladas *in vitro*. Diversos gêneros são encontrados, como: *Candida spp.*, *Pichia spp.*, *Kloeckera spp.*, *Torulopsis spp.*, *Hansenula spp.*, *Rhodotorula spp.*, *Saccharomyces spp.* e *Saccharomycopsi spp.* (Esposito e Azevedo, 2010).

As leveduras são fungos considerados anaeróbios facultativos, pois podem suportar baixos índices de oxigênio e baixo pH por períodos prolongados. Porém essas condições inibem seu crescimento (Jobim e Gonçalves, 2003).

Segundo Adesogan e Queiroz (2009), leveduras do gênero *Candida* e *Hansenula* proliferam principalmente durante a fase aeróbia, devido à afinidade por lactato e glicose. A deterioração aeróbia da silagem é iniciada principalmente pelas leveduras, pois consomem o lactato como uma das fontes de substrato e conseqüentemente elevam o pH da silagem, propiciando dessa forma, o crescimento vegetativo de microrganismos indesejáveis como fungos filamentosos e bactérias, responsáveis por altas perdas de matéria seca. O número de leveduras na silagem segundo Woolford (1990) pode variar entre $<10^2$ a 10^{12} UFC/g de silagem em menos de três dias.

McDonald *et al.* (1991) afirmam que durante a fermentação anaeróbia de silagens, as leveduras viáveis transformam o açúcar presente nas plantas em etanol e dióxido de carbono, principalmente quando há pequenas quantidades de oxigênio na massa (Figura 1). Essa fermentação diminui os substratos da forragem,

reduzindo a energia do material, necessária na alimentação dos ruminantes. No entanto, a maioria dos efeitos causados pelas leveduras ocorre após a abertura do silo.

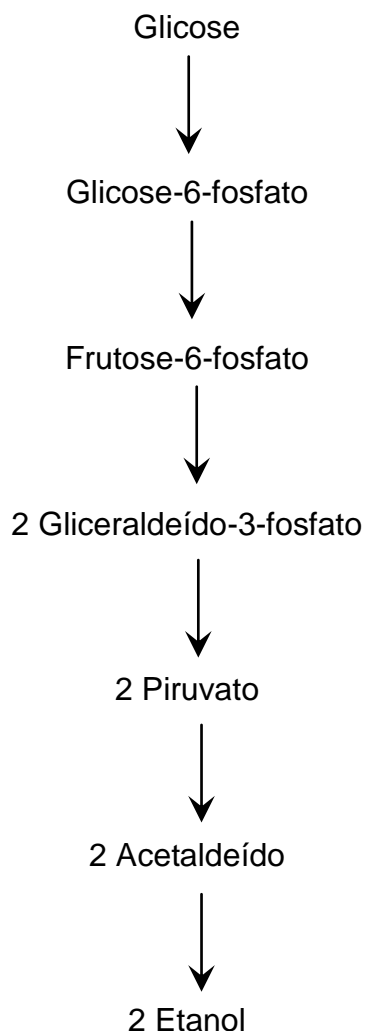


Figura 1. Síntese da fermentação de glicose pelas leveduras.

Fonte: Modificado de McDonald *et al.* (1991).

As áreas do silo que estão mais próximas à atmosfera, são mais sujeitas a infiltração de ar, devido a maior porosidade da massa e aos materiais utilizados na cobertura (Bernardes, 2006). Dessa forma, o metabolismo das leveduras pode apresentar ativo durante todo o período de estocagem (Bernardes *et al.*, 2011) e segundo Woolford (1990), chegar a contagens iniciais de 10^5 UFC/g de silagem.

Alguns ácidos que apresentam características em reduzir o pH da silagem, provocam inibição de microrganismos indesejados, no entanto, as leveduras têm apresentado tolerância a esses componentes (McDonald *et al.*, 1991).

Da mesma forma, Pedroso (2003) descreve que aditivos contendo bactérias heterofermentativas que produzem ácido acético, além do ácido láctico, têm apresentado bom potencial como forma de aumentar o tempo de estabilidade aeróbica das silagens, devido ao maior poder desse ácido em inibir o crescimento de leveduras e fungos.

Além de ácidos e inoculantes utilizados para controlar o crescimento de leveduras em silagens, alguns antibióticos, segundo McDonald *et al.* (1991), podem ser utilizados para aumentar o tempo de estabilidade aeróbia da silagem.

2.3. Aditivos para Silagem

Os aditivos químicos e microbianos nas silagens têm sido utilizados com a intenção de reduzir as perdas por fermentações indesejáveis e de valor nutritivo da massa ensilada, além de melhorar a estabilidade aeróbia e inibir microrganismos indesejáveis como leveduras e clostrídeos, desse modo, melhorando a desempenho animal (Kung Jr., 2001).

Entre as funções atuantes de cada aditivo, destaca-se a importância em promover fermentação desejável ou também inibir fermentação indesejável da forragem ensilada. O aditivo ideal a ser empregado na silagem, segundo Henderson (1993), é aquele que proporciona segurança no seu manuseio, contribui para redução de perdas de matéria seca, propicia a melhoria da qualidade higiênica da silagem, restringe a fermentação secundária, aumenta o valor nutritivo, melhora o tempo de estabilidade aeróbia além de oferecer o maior retorno na produção animal em relação ao custo apresentado pelo uso do aditivo. Junges (2010) afirma que a utilização de aditivos em silagens de milho é necessária quando a planta ensilada não é de boa qualidade, ou quando ocorrem falhas no processo de ensilagem e retirada da forragem conservada dos silos.

Segundo McDonald *et al.* (1991) os aditivos para silagem podem ser classificados em cinco principais grupos: estimuladores de fermentação, inibidores

parciais ou totais de fermentação, inibidores de deterioração aeróbia, nutrientes e absorventes.

Os estimuladores de fermentação nas silagens, segundo Muck e Kung (1997), como os inoculantes bacterianos, são um dos principais aditivos usados, contendo bactérias ácido lácticas que garantem a rápida queda do pH pela fermentação. Essas bactérias, segundo Muck (2004), têm proporcionado aumento na recuperação de matéria seca das silagens, melhora no desempenho animal e estabilidade aeróbia, além de reduzir até um terço de tempo desde o momento da ensilagem até a abertura do silo.

De acordo com Pedroso (2003), inoculantes comerciais contêm normalmente linhagens de bactérias homofermentativas, produtoras estritas de ácido láctico como, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus faecium*, *Enterococcus faecium* e *Lactococcus lactis*. Além das bactérias homofermentativas, inoculantes recentes contêm bactérias heterofermentativas: *Lactobacillus buchneri*, *Pediococcus cerevisiae*, *Propionibacterium shermani* e *Propionibacterium acidipropionici*, que possuem habilidade de produzir ácido acético e propiônico.

Ainda dentro dos estimulantes de fermentação, McDonald *et al.* (1991) afirmam que os carboidratos solúveis como os açúcares e melaço, podem ser adicionados de diversas formas nas silagens, servindo como substrato para bactérias ácido lácticas.

Os inibidores de fermentação a base de ácidos orgânicos como fórmico, propiônico e acético, apresentam características de redução do pH da silagem, inibindo o desenvolvimento de microrganismos indesejados (McDonald *et al.*, 1991).

Os antibióticos estão classificados por McDonald *et al.* (1991) como inibidores de fermentação, apresentando uma grande variedade desses compostos para adição em silagens. Porém, a sua utilização em muitos países é controlada na alimentação animal e não há tradição de uso. Os antibióticos podem ser classificados em duas categorias de aditivos para silagens: antibióticos inibidores de fermentação e inibidores da deterioração aeróbia. Alguns aditivos antimicrobianos podem possuir alta capacidade de reduzir o crescimento de leveduras e aumentar a estabilidade aeróbia de silagens (Woolford *et al.*, 1980; D'Urso *et al.*, 1990).

2.3.1. *Lactobacillus buchneri*

Os inoculantes microbianos são aditivos comuns utilizados na confecção de silagem, por apresentarem fácil aplicação na forragem, não causar danos em máquinas e equipamentos por corrosão, além de proporcionar rápida e eficiente fermentação do material ensilado. Depois das bactérias homofermentativas, o *Lactobacillus buchneri* é uma das bactérias heterofermentativas mais utilizadas na confecção de silagens, que além de produzir o ácido láctico possui a capacidade de produzir ácido acético, um grande inibidor de leveduras (Muck, 2004). Pedroso (2003) afirma que aditivos contendo bactérias heteroláticas que produzem ácido acético, têm apresentado bom potencial de aumento do tempo de estabilidade aeróbia de silagens e maior poder inibidor das leveduras pelo ácido acético.

Diversos trabalhos encontrados na literatura utilizando *L. buchneri*, demonstram eficiência na melhoria da qualidade fermentativa das silagens, reduzindo por sua vez as perdas por deterioração aeróbia no processo. De acordo com McDonald *et al.* (1991), a fermentação heterolática pode gerar maiores perdas de matéria seca devido a produção de gases (CO_2 e H_2). Ranjit *et al.* (2002) utilizando *L. buchneri* na ensilagem de milho, não observaram redução na perda de matéria seca em relação a silagem controle. No entanto, Mendes *et al.* (2008) verificaram que a presença de ácido acético produzido pelo *L. buchneri* proporcionou o aumento no tempo de estabilidade aeróbia, além de manter o pH das silagens estáveis e reduzir as perdas de matéria seca.

Segundo Mc Donald *et al.* (1991), o *Lactobacillus buchneri* não produz etanol na fermentação anaeróbica da glicose, por não possuir a enzima acetaldeído desidrogenase. A glicose será fermentada a acetato se houver um receptor de hidrogênio, como é o caso da frutose, que então será reduzida a manitol (Figura 2).

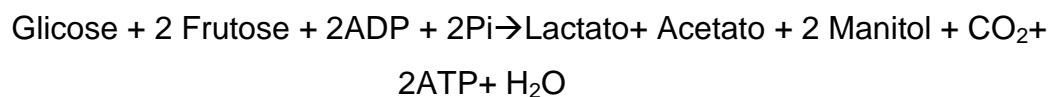
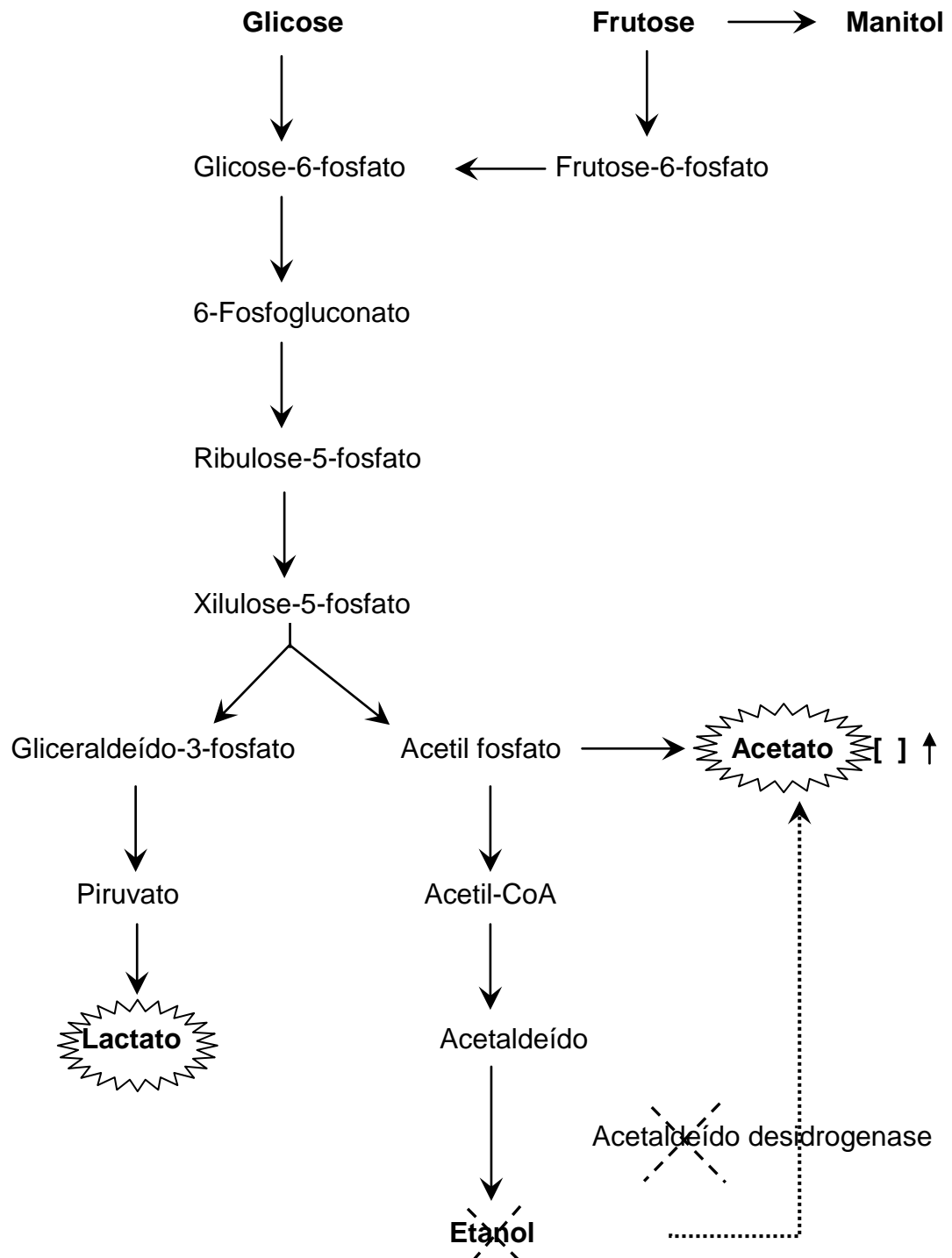


Figura 2. Síntese da fermentação da glicose e da frutose de bactérias heterofermentativas, com ênfase na bactéria *Lactobacillus buchneri*.

Fonte: Adaptado de McDonald *et al.* (1991).

De acordo com Driehuis *et al.* (1999) e Driehuis *et al.* (2001) a capacidade do *L. buchneri* converter ácido láctico em ácido acético e CO₂ em condições anaeróbicas durante o processo fermentativo, afeta negativamente o crescimento de leveduras. Oude Elferink *et al.* (2001) afirmam que a degradação anaeróbica do ácido láctico pelo *L. buchneri* (Figura 3), mostra que, 2 moles de ácido láctico é degradado em 1 mol de ácido acético e 1 mol de 1,2-propanediol, podendo também segundo os autores, ser liberado nesse processo traços de etanol.

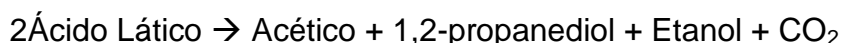
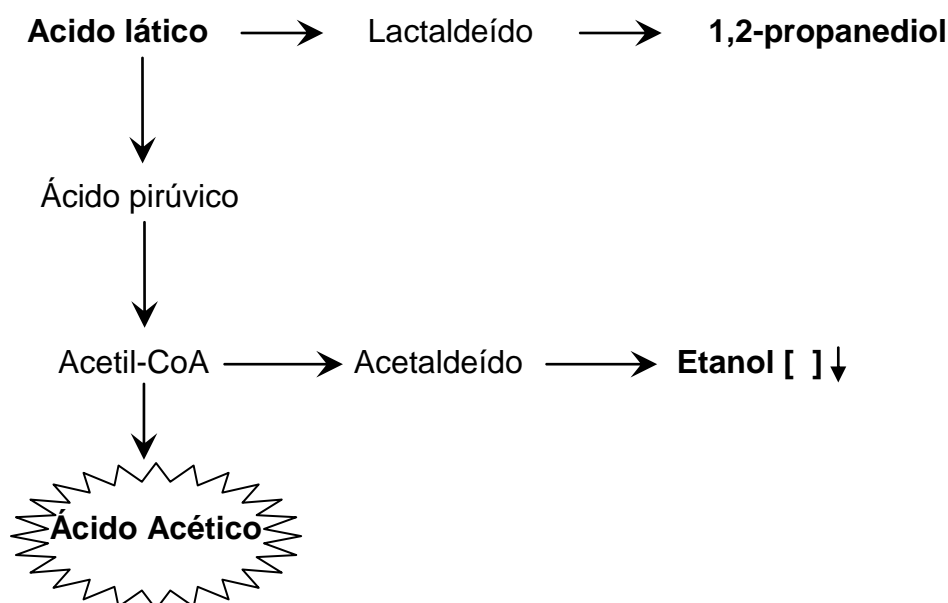


Figura 3. Síntese da degradação do ácido láctico pelo *Lactobacillus buchneri* em ácido acético, 1,2-propanediol e traços de etanol.

Fonte: Modificado de Oude Elferink *et al.* (2001).

Segundo Kleinschmit e Kung (2006), a proporção de ácido láctico:acético pode ser alterada de 3,0:1 para 2,3:1 e 1,3:1 em silagens de milho inoculadas com baixas ou altas dosagens de *L. buchneri*.

Filya e Sucu (2010) verificaram redução na contagem de fungos e leveduras, aumentando a estabilidade aeróbia das silagens de milho inoculadas com *L. buchneri*, quando comparadas com silagens não inoculadas ou inoculadas com bactérias homofermentativas. Em um estudo realizado por Filya (2003), a adição de *L. buchneri* sozinho ou em conjunto com bactérias homofermentativas, aumentou o tempo de estabilidade aeróbia das silagens de sorgo e milho.

Segundo Driehuis *et al.* (2001) a adição de *L. buchneri* sozinho ou com aditivo enzimático pode afetar o crescimento vegetativo de leveduras na silagem, chegando a ser nulo e conseqüentemente mantendo o tempo de estabilidade aeróbia. A utilização do *L. buchneri* é uma alternativa para se obter um controle efetivo no crescimento de leveduras e fungos, além de melhorar a qualidade da silagem após a abertura, tornando mais estável em aerobiose. Porém, as perdas durante o processo fermentativo da forragem inoculada, precisam ser monitoradas devido à possibilidade de aumento na produção de gases na fermentação.

2.3.2. Natamicina

A natamicina é um antibiótico polieno fungicida com princípio ativo pimaricina. Foi descoberta em 1955 através de uma filtração de culturas de bactérias *Streptomyces natalensis* (Furtado, 1991). Este microorganismo foi isolado na soja da província de Natal, no Sul da África, sendo que o nome é derivado dessa região. A natamicina tem forma cristalina e sua fórmula empírica é $C_{33}H_{47}NO_{13}$, sendo determinada sua estrutura em 1958 (Brustolin, 2009).

De acordo com Brik (1981), a natamicina possui pKa de 4,6, onde o pH ideal para estabilidade da molécula segundo Raab (1972), é entre 4,5 e 9,0 ao longo de um período máximo de 72 horas. Além disso, o autor explica ainda que em pH extremo perto de 2, a natamicina é substancialmente perdida. Seu mecanismo de ação é se conectar no interior da membrana celular do bolor combinando-se com o ergosterol e o 24 e 28-dehidroergosterol, além do colesterol, produzindo uma mudança de permeabilidade da membrana, o que provoca a perda de materiais celulares essenciais (Welscher *et al.*, 2008). Esses componentes estão presentes nas membranas das células de bolores e leveduras, mas não se encontram nas bactérias. Sendo assim, é considerado um grande inibidor estrito de bolores e leveduras (Obregon, 2004).

A natamicina de acordo com Brustolin (2009) é efetiva contra uma extensa lista de cepas de fungos, melhorando a aparência estética e a vida de prateleira dos alimentos para o consumo humano. Além de reduzir o risco de produção de micotoxinas, a substância não afeta a aparência, sabor, cor e aroma dos alimentos.

A natamicina é comumente utilizada em alimentos sólidos, onde a casca ou a película envolvente não é ingerida, como é o caso de queijos duros e embutidos cárneos (Torres, 1997). Segundo Furtado (2005), esse composto é aplicado no queijo na forma de solução aquosa (de 0,1 a 0,2%) na qual se mergulham os queijos logo após a salmoura, eventualmente repetido após três ou quatro semanas.

Nos últimos anos, diversos estudos vêm sendo realizados usando a natamicina na conservação de alimentos, dentre eles, queijos (Var *et al.*, 2006) salames (Brustolin, 2009), sucos e vinhos (Medina *et al.*, 2007), azeitonas (Hondrodimou *et al.*, 2011) e frutas minimamente processadas como kiwis e morangos (Cé, 2009).

Em razão de sua efetividade, esse antifúngico tem sido utilizado com objetivo de impedir a proliferação de bolores e leveduras indesejáveis na casca de queijos maturados internamente por mofos, como o gorgonzola (Furtado, 2005). Além de utilizar a natamicina para banhar a superfície de queijos e produtos cárneos, pode ser utilizada como solução em spray, diretamente em bebidas fermentadas ou em sucos de frutas (Obregón, 2004).

Baseado na Diretiva 95/2/CE da Comissão Europeia sobre os aditivos de alimentos, com exceção dos corantes e dos edulcorantes, o uso da natamicina é permitida para tratamento superficial de alimentos lácteos como os queijos (European Commission, 1995).

De acordo com a Resolução nº 28 da Anvisa (BRASIL, 2001), é permitido o uso da natamicina (Pimaricina) como conservador, para tratamento superficial de produtos, como embutidos cárneos no limite máximo de 1mg/dm², ausente em 5mm de profundidade. Recentemente, a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA), publicou um parecer científico favorável sobre o uso de natamicina como aditivo alimentar, mostrando evidências no controle de crescimento de fungos em aplicações de superfície de produtos, tais como azeitonas de mesa (EFSA, 2009).

A natamicina também é utilizada na medicina veterinária em aplicações tópicas para combater mastites por leveduras e nas queratites micóticas, não sendo indicada nas infecções profundas do olho, pela sua escassa absorção (Prescott e Baggot, 1991).

De acordo com a Agência Europeia de Análises de Produtos Médicos (Eaemp, 1998) estudos com administração de natamicina nas doses de até 5000 mg/dia intra ruminal em bovinos fistulados, verificaram uma baixa absorção desse

composto pela mucosa dos animais, sendo encontrados resultados negativos do medicamento no sangue, urina e leite, considerado extremamente seguro seu uso em animais e alimentos para consumo humano. Segundo Obregón (2004), microrganismos indesejados não desenvolvem resistência frente à natamicina, que é muito mais efetiva que os conservantes químicos em mínimas concentrações.

São raros os trabalhos encontrados na literatura que avaliaram o uso da natamicina como aditivo para silagens. Woolford *et al.* (1980) avaliaram o tratamento de silagens com pimaricina e verificaram diminuição no número de leveduras e outros fungos durante a exposição aeróbia. Em outro trabalho realizado por D'Urso *et al.* (1990), os autores verificaram aumento no tempo de estabilidade aeróbia na silagem de tritcale aditivada com pimaricina. Recentemente, Schmidt *et al.* (2012) utilizaram a natamicina em silagens de milho, mensurando as perdas durante o processo fermentativo da forragem e verificaram potencial de mitigação de gases pelo aditivo.

Assim, a utilização da natamicina em silagens pode controlar a multiplicação de leveduras e fungos, e aumentar o tempo de estabilidade aeróbia das silagens.

2.4. Desempenho animal nos ensaios de avaliação da qualidade de dietas

O consumo de alimento é de extrema importância para a nutrição, pois determina o nível de ingestão de nutrientes e, portanto, a resposta animal. O consumo é regulado e limitado pelas exigências fisiológicas e metabólicas do animal (Van Soest, 1994).

Diversos estudos são realizados para avaliar a qualidade de uma fonte volumosa, utilizando como uma ferramenta o desempenho de animais. Pinto *et al.* (2005), avaliando o desempenho de cordeiros com diferentes fontes de volumoso na composição da dieta, verificaram que o feno de restolho de abacaxi (*Ananas comosus*) apresentou melhor ganho de peso quando comparado com outras fontes de volumosos como feno de capim d'água (*Panicum geminatum*) e silagem mista de milho, sendo considerado um volumoso alternativo em determinadas regiões do país.

Em um estudo realizado por Bulle *et al.* (2002), com diferentes proporções de bagaço de cana in natura como única fonte de volumoso na dieta de bovinos

confinados, verificou-se ganho de peso maior no grupo com a inclusão de 15% da MS na dieta.

Ensaio utilizando feno na avaliação do desempenho animal também são bastante comuns. Camurça *et al.* (2002) utilizaram diferentes feno de forragens tropicais na dieta de ovinos e verificaram a necessidade de adicionar maiores quantidades de concentrado para melhorar o ganho dos animais.

As pesquisas com silagens, principais fontes de volumosos utilizados em confinamentos, apresentam uma grande diversidade de ensaios utilizando animais como forma de avaliação de suas características nutricionais. Costa *et al.* (2002) verificaram melhor desempenho de bovinos superprecoces utilizando silagem como principal volumoso, quando comparado com feno de aveia preta, sendo considerado pelos autores, economicamente viável, além de proporcionar maior ganho de peso e cobertura de gordura nas carcaças.

Em virtude de características da forragem de milho como carboidratos solúveis e baixo poder tampão, a fermentação desse material é mais eficiente, produzindo por sua vez uma silagem de alto valor nutricional. Em trabalho realizado por Bueno *et al.* (2004) com silagens de girassol e de milho para cordeiros confinados, verificou-se maior ganho de peso médio diário e conversão alimentar nos animais que consumiram silagem de milho, o que segundo os autores ocorreu pelo fato do alto valor nutritivo da silagem. Resultado semelhante foi encontrado por Vaz e Restle (2005), obtendo efeitos maiores no desempenho e rendimento de carcaça de novilhos, alimentados com silagem de milho em relação à silagem de cana.

Diferentes características de uma mesma forragem também são importantes na avaliação da produção animal. Arriola (2006) realizou um estudo avaliando efeitos do teor de matéria seca de silagens de milho na produção de leite de vacas, sendo verificada melhor produção com a forragem cortada com 35% de matéria seca no momento da ensilagem.

A realização de ensaios de desempenho animal, utilizando uma fonte de volumoso com a presença ou não de aditivos, é de fundamental importância na obtenção de resultados para avaliar a eficiência de um determinado produto já lançado ou ainda por lançar no mercado. Diversos trabalhos são realizados para avaliar a eficiência dos aditivos nas silagens, através de resultados obtidos pela experimentação animal. Segundo Dönmez *et al.* (2003) o número de protozoários

ruminais em ovinos foi maior nos animais suplementados com silagem mais melaço em relação à silagens com ácido fórmico em sua composição. Esses mesmos autores observaram ainda que, silagens aditivadas com melaço proporcionaram maior produção de ácidos graxos voláteis no rúmen, quando comparadas à silagem aditivadas com enzima. Rowghani e Zamiri (2009) avaliaram o efeito de inoculantes e ácido fórmico em silagens de planta inteira de milho na alimentação de vacas, sendo observado aumento na degradabilidade da matéria seca quando comparado com a silagem sem aditivo. Lombardi *et al.* (2010) afirmam que a silagem de milho aditivada com 1% de ureia ou 20% de grãos de girassol, não afeta o desempenho de cordeiros em confinamento. Pedroso (2003) encontrou resultados satisfatórios no desempenho de novilhas, quando alimentadas com silagens inoculadas com *Lactobacillus buchneri* em relação à silagem controle, obtendo aumento de até 31% no ganho de peso, além da melhora na conversão alimentar e consumo por animal por dia.

No ensaio de desempenho, diversas variáveis são avaliadas nos animais que participam do experimento, esclarecendo de tal forma questionamentos em relação ao volumoso e ao aditivo utilizado, como a sua qualidade, eficiência, proporção e viabilidade. Bueno *et al.* (2004) avaliaram dietas contendo dois tipos de silagens (milho ou girasol) com diferentes proporções de concentrado (20, 40 e 60) e verificaram melhor ganho de peso, conversão alimentar e consumo, nas dietas contendo silagem de milho com 60% de concentrado. Em outro estudo Reis *et al.* (2001), avaliaram o desempenho de cordeiros e verificaram que dietas contendo grãos de milho úmido e hidratado foram mais eficientes no ganho de peso precocidade no abate dos animais.

A realização de ensaios de desempenho animal, que avaliam aditivos em silagens ou outra fonte de volumoso permite determinar o custo da sua utilização e seus benefícios, na qualidade da forragem e no ganho animal, viabilizando por sua vez, o uso do aditivo comercialmente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADESOGAN A. T., QUEIROZ O. C. M. (2009) Silage pathogenicity and implications for the ruminant production chain. In: ZOPOLLATTO M., MURARO G.B. e NUSSIO, L.G. (eds). *Proceedings International Symposium on Forage Quality and Conservation*. Piracicaba, SP, Brazil, 2009, pp. 7-22. Piracicaba, Brazil: UFV Press.

ARRIOLA K. G. (2006) Effect of stay-green ranking, maturity and moisture concentration of corn hybrids on silage quality and the health and productivity of lactating dairy cows. In: *Florida: Universidade of Florida, Thesis (Master in Science)*, 114p.

BERNARDES T. F., NUSSIO L. G. and AMARAL R. C. (2011) Top spoilage losses in maize silage sealed with plastic films with different permeabilities to oxygen. *Grass and Forage Science*, 67, 34-42.

BRASIL (2001) Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução - RDC nº 28, de 23 de fevereiro de 2001. Regulamento técnico sobre de Natamicina para conservação de produtos cárneos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 02 de fevereiro de 2001, 2p.

BRIK H. (1981) Natamycin. In: FLORY K. (ed) *Analytical profiles of drug substances*. Academic Press, New York, 10, p 513.

BRUSTOLIN J. C. (2009) Uso da natamicina no controle do desenvolvimento de fungos em salame tipo italiano (Use of natamycin in controlling mold growth in Italian salami) In: Santa Maria: *Universidade Federal de Santa Maria, Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)*, 53p.

BUENO M. S., FERRARI Jr. E., POSSENTI R. A., BIANCHINI D., LEINZ F. F. and RODRIGUES C. F. C. (2004) Desempenho de cordeiros alimentados com silagem de girassol ou de milho com proporções crescentes de ração concentrada (Performance of sheep fed sunflower silage or corn silage with increasing proportion of commercial concentrate). *Brazilian Journal of Animal Science*, **33**, 1942-1948.

BULLE M. L. M., RIBEIRO F. G., LEME P. R., TITTO E. A. L. and LANNA D. P. D. (2002) Desempenho de tourinhos cruzados em dietas de alto teor de concentrado com bagaço de cana-de-açúcar como único volumoso (Performance of young bulls fed high concentrate diets with sugarcane bagasse as roughage source). *Brazilian Journal of Animal Science*, **31**, 444-450.

CALSAMIGLIA S., HERNANDEZ B. and PHIPPS R. (2007) Effects of corn silage derived from a genetically modified variety containing two transgenes on feed intake, milk production, and composition, and the absence of detectable transgenic deoxyribonucleic acid in milk in holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **90**, 4718-4723.

CAMURÇA D. A., NEIVA J. N. M., PIMENTEL J. C. M., VASCONCELOS V R. and LÔBO R. N. B. (2002) Desempenho produtivo de ovinos alimentados com dietas à base de feno de gramíneas tropicais (Performance of Sheep Fed Tropical Grass Hay Based Diets). *Brazilian Journal of Animal Science*, **31**, 2113-2122.

CÉ N. (2009) Utilização de filmes de quitosana contendo nisina e natamicina para cobertura de kiwis e morangos minimamente processados (Application of chitosan coatings nisin and natamycin on kiwi and strawberry minimally processed) In: Porto Alegre: *Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)*, 95p.

COSTA C., ARRIGONI M. B., SILVEIRA A. C. and OLIVEIRA H. N. (2002) Desempenho de bovinos superprecoces alimentados com silagem de milho ou feno de aveia e grãos de milho ensilados ou secos (Performance of young bulls fed with corn silage or oat hay and dried grain or ensiled corn). *Acta Scientiarum*, **24**, 1175-1183.

COSTA C., ARRIGONI M. B., SILVEIRA A. C. and OLIVEIRA H. N. (2002) Desempenho de bovinos superprecoces alimentados com silagem de milho ou feno de aveia e grãos de milho ensilados ou secos (Performance of young bulls fed with corn silage or oat hay and dried grain or ensiled corn). *Acta Scientiarum*, **24**, 1175-1183.

D'URSO G., AVONDO M., LICITRA G. and SINATRA M. C. (1990) Effetti dell'aggiunta di Na-bentonite, acido formico e pimaricina sulle caratteristiche di fermentazione e sul deterioramento aerobico degli insilati di triticale (Effect of the addition of Na-Bentonite, formic acid and pimaricin on the fermentations characteristics and on the aerobic deterioration of triticale silage), *Zootechnica e Nutrizione Animale*, **16**, 99-106.

DEMINICIS B. B., VIEIRA H. D., JARDIM J. G., ARAÚJO S. A. C., CHAMBELA NETO A., OLIVEIRA V. C. and LIMA E. S. (2009) Silagem de milho - Características agrônômicas e considerações. *Revista Eletrônica de Veterinária*. **10**, 1-18.

DÖNMEZ N., KARSL M. A., ÇINAR A., AKSU T. and BAYTOK E. (2003) The effects of different silage additives on rumen protozoan number and volatile fatty acid concentration in sheep fed corn silage. *Small Ruminant Research*, **48**, 227–231.

DRIEHUIS F., OUDE ELFERINK S. J. W. H. and SPOELSTRA S. F. (1999) Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *Journal of Applied Microbiology*, **87**, 583–594.

DRIEHUIS F., OUDE ELFERINK S. J. W. H. and VAN WIKESLAAR P. G. (2001) Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic-acid bacteria. *Grass and Forage Science*, **56**, 330–343.

ESPOSITO E. and AZEVEDO J. L. (2010) *Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*, 2 ed. Caxias do Sul, RS, Brazil: EDUCS.

European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EAEMP) (1998) EMEA/MRL/342/98-Final February 1998. *Comitee for Veterinary Medicinal Products – Natamycin*.

European Commission (1995) Directive (EC) No 95/2 of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners. *Office Journal European. Communities* L6.

European Food Safety Authority (EFSA) (2009) Scientific opinion on the use of natamycin (E 235) as a food additive. *EFSA Journal*, **7**, 1412.

FAKOREDE M. A. B. and MOCK J. J. (1980) Growth analysis of maize variety hybrids obtained from two recurrent selection programmes for grain yield. *New Phytologist*. **85**, 393-408.

FILYA I. (2003) The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homo-fermentative lactic-acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. *Journal of Applied Microbiology*, **95**, 1080–1086.

FILYA I. and SUCU E. (2010) The effects of lactic acid bacteria on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. *Grass and Forage Science*, **65**, 446–455.

FURTADO M. M. (1991) *A arte e a ciência do queijo* (The art and science of cheese). São Paulo, SP, Brasil: Ed. Globo.

FURTADO M. M. (2005) *Principais problemas dos queijos: Causas e Prevenção* (Main problems of cheeses: Causes and Prevention). São Paulo, SP, Brasil: Ed. Fonte Comunicações.

GUIM A., ANDRADE P., ITURRINO-SCHOCKEN R. P., FRANCO G. L., RUGGIERI A. C. and MALHEIROS E. B. (2002) Estabilidade aeróbica de silagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum) emurchecido e tratado com inoculante microbiano (Aerobic stability of wilted grass silages (*Pennisetum purpureum*, Schum) Treated with microbial inoculant. *Brazilian Journal of Animal Science*, **31**, 2176-2185.

HAVILAH E. J. AND KAISER A. G. (1994) The “stay-green” characteristic and maize silage production. In: Birch C. *et al. Proceedings of the Second Australian Maize Conference, Gatton, Queensland, 1994*, p 209–212.

HENDERSON N. (1993) Silage additives. *Animal Feed Science and Technology*, **45**, 35-56.

HOLLAND C., KEZAR W. and QUADE Z. (1990) Pioneer Forage Manual – A Nutritional Guide. *Pioneer Hi-Bred International* p 19–21.

HONDRODIMOU O., KOURKOUTAS Y. and PANAGOU E. Z. (2011) Efficacy of natamycin to control fungal growth in natural black olive fermentation, *Food Microbiology*, **28**, 621-627.

JOBIM C. C. and GONÇALVES G. D. (2003) Microbiologia de Forragens Conservadas (Microbiology of Conserves Forages In: REIS R. A., BERNARDES T.F., SIQUEIRA G.R. and MOREIRA A. L. *Proceedings Forages in Ruminant Production: Alimentary Value Forages. Jaboticabal, SP, Brazil, 2003*, pp 1-26.

JUNGES D. (2010) Aditivo microbiano na silagem de milho em diferentes tempos de armazenamento e avaliação da estabilidade aeróbia por termografia em infravermelho. In: Curitiba: *Universidade Federal do Paraná, Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)*, 2010, 100p.

KLEINSCHMIT D. H. and KUNG, JR. L. (2006) A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages original research article. *Journal of Dairy Science*, **89**, 4005-4013.

KUNG Jr. L. (2001). Silage fermentation and additives. In: JACQUES K. A. and LYONS T.P. (eds) *Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium*. Nottingham University Press, Nottingham, UK, p145-159.

KUNG Jr. L., ROBINSON Jr., RANJIT N. K., CHEN J. H., GOLT C. M. and PESEK J. D. (2000) Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. *Journal of Dairy Science*, **83**, 1479-1486.

McDONALD P., HENDERSON A. R. and HERON S. J. E. (1991) *Biochemistry of silage*, 2nd edn. Marlow, UK: Chalcombe Publications.

MEDINA A., JIMENEZ M., MATEO R. and MAGAN N. (2007) Efficacy of natamycin for control of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains under different environmental conditions, *Journal of Applied Microbiology*, **103**, 2234–2239.

MENDES C. Q., SUSIN I, NUSSIO L. G., PIRES A. V., RODRIGUES G. H. and URANO F. S. (2008) Efeito do *Lactobacillus buchneri* na fermentação, estabilidade aeróbia e no valor nutritivo de silagem de cana-de-açúcar (Effect of *Lactobacillus buchneri* on fermentation, aerobic stability, and nutritive value of sugar cane silage) *Brazilian Journal of Animal Science*, **37**, 2191-2198.

MUCK R. E. (2004) Effects of corn silage inoculants on aerobic stability, *American Society of Agricultural Engineers*, **47**, 1011–1016.

MUCK, R. E.; KUNG JR., L. (1997) Effects of silage additives on ensiling. In: *Proceedings Silage: Field to feedbunk. North America Conference*. Hershey, USA: pp.187-199. Ed. NRAES.

NUSSIO L. G. and RIBEIRO J. L. (2008) Silagem de capim: potencial e limitações (Grass silage: potential and limitations). In: MUNIZ E. N., GOMIDE C. A. M., RANGEL J. H. A., ALMEIDA S. A., SÁ C. O. and SÁ J. L. *Alternativas alimentares para ruminantes II*. Aracaju, SE, Brazil: pp. 53-80. Aracaju, Brazil: Embrapa Tabuleiros Costeiros.

OBREGÓN A.C. (2004) Métodos de Conservación em Cárnicos y Lácteos. *Mundo Lácteo e Cárnico*, p. 24. 2004. Disponível em: <http://www.alimentariaonline.com/media/MLC003_metNutrert.pdf>. Acess in: May, 10th, 2012.

OUDE ELFERINK S. J. W. H., KROONEMAN J., GOTTSCHAL J. A., SPOELSTRA S. F. and FABER F. (2001) Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-

propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied Environmental Microbiology*, **67**, 125–132.

PEDROSO A. F. (2003) Aditivos químicos e microbianos no controle de perdas e na qualidade de silagem de cana-de-açúcar (Chemical and microbial additives to control losses and quality of sugar cane silage) *Animal Science and Pastures, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Tese (Doutorado em Agronomia)*, 2003, 120p.

PEDROSO A. F. (2003) Aditivos químicos e microbianos no controle de perdas e na qualidade de silagem de cana-de-açúcar (Chemical and microbial additives to control losses and quality of sugar cane silage) *Animal Science and Pastures, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Tese (Doutorado em Agronomia)*, 2003, 120p.

PEDROSO A. F., NUSSIO L. G., LOURES D. R. S., PAZIANI S. F., RIBEIRO J. L., MARI L. J., ZOPOLLATTO M., SCHMIDT P., MATTOS W. R. S. and HORII J. (2008) Fermentation, losses, and aerobic stability of sugarcane silages treated with chemical or bacterial additives. *Science Agriculture*, **65**, 589-594.

PINTO C. W. C., SOUSA W. H., PIMENTA FILHO E. C., CUNHA M. G. G and GONZAGA NETO S. (2005) Desempenho de cordeiros santa inês terminados com diferentes fontes de volumosos em confinamento (Performance of santa inês lambs terminated with different forage source in feedlot). *Agropecuária Técnica*, **26**, 123-128.

PRESCOTT J. F and BAGGOT J. D. (1991) *Terapêutica antimicrobiana veterinária* (Veterinary antimicrobial therapeuti). Zaragoza: Acribia.

RAAB W. (1972) Natamycin (Pimaricin). Its Properties and Possibilities in Medicine. Georg Thieme Publishers, Stuttgart, Germany, p134.

REIS W., JOBIM C.C., MACEDO F. A. F., MARTINS E. N., CECATO U. and SILVEIRA A. (2001) Desempenho de cordeiros terminados em confinamento, consumindo silagens de milho de grãos com alta umidade ou grãos de milho hidratados em substituição aos grãos de milho seco da dieta (Performance of feedlot lambs fed high-moisture grain corn silage or reconstituted grain corn silage in replacement of dry corn grain in the diet). *Brazilian Journal of Animal Science*, **30**, 596-603.

RIBEIRO E. L. A., ROCHA M. A., MIZUBUTI I. Y. and SILVA L. D. F. (2002) Silagens de girassol (*Helianthus annus* L.), MILHO (*Zea mays* L.) e sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) para ovelhas em confinamento (Silages of sunflower (*Helianthus annus* L.), corn (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) for ewes in feedlot). *Ciência Rural*, **32**, 299-302.

ROWGHANI E. and ZAMIRI M. J. (2009) The effects of a microbial inoculant and formic acid as silage additives on chemical composition, ruminal degradability and nutrient digestibility of corn silage in sheep. *Iranian Journal of Veterinary Research*, **10**, 110-118.

SCHMIDT P., NOVINSKI C. O., CARNEIRO E. W. and BAYER C. (2012) Greenhouse gas emissions from fermentation of corn silage. In: K. Kuoppala, M. Rinne e A. Vanhatalo (eds) XVI International Silage Conference, Hämeenlinna, Finland, 2012, p428.

SIQUEIRA G. R., BERNARDES T. F. and REIS R. A. (2005) Instabilidade aeróbia de silagens: efeitos e possibilidades de prevenção (Aerobic instability of silages: effects and possible prevention). In: REIS R. A., SIQUEIRA G. R. and BERTIPAGLIA L. M. A. (Eds.). *Volumosos na produção de ruminantes (Forages in ruminant production)*. Jaboticabal, SP, Brazil: pp.25-60. Jaboticabal, Brazil: FUNEP.

TORRES E. A. F. S. (1997) A questão do uso de natamicina em alimentos (The question of the use of natamycin in food) *Revista Higiene Alimentar*, **11**, 1-6.

VAN SOEST, P. J. (1994) Intake. IN: *Nutritional ecology of the ruminant*. 2 ed., Cornell University Press.

VAR I., ERGINKAYA Z., GÜVEN M. and KABAK B. (2006) Effects of antifungal agent and packaging material on microflora of Kashar cheese during storage period. *Food Control*, **17**, 132–136.

VAZ F. N. and RESTLE J. (2005) Características de carcaça e da carne de novinhos Hereford terminados em confinamento com diferentes fontes de volumoso (Carcass and meat characteristics of Hereford steers finished in feedlot with different roughage sources). *Brazilian Journal of Animal Science*, **34**, 230-238.

WEISS B. (1996) When to consider silage additives. In: *Proceedings Tri-State Dairy Nutrition Conference*. Department of Animal Sciences. Ohio, USA, pp. 125-134.

WELSCHER Y. M., HENDRIK H. N., BALAGUE M. M., SOUZA C. M., RIEZMAAN H., KRUIJFF B. and BREUKINK E. (2008) Natamycin blocks fungal growth by binding specifically to ergosterol without permeabilizing the membrane. *The Journal of Biological Chemistry*, **283**, 6393-6401.

WILKINSON J. M. and HILL J. (2003) Effect on yield and dry-matter distribution of the stay-green characteristic in cultivars of forage maize grown in England. *Grass and Forage Science*, **58**, 258–264.

WOOLFORD M. K., COOK J. E., HALL D. M. and BONIS A. (1980) The use of pimaricina as an additive to improve the aerobic stability of silage. *Journal Science Food Agriculture*, **31**, 558-566.

WOOLFORD, M. K. (1990) The detrimental effects of air on silage. *Journal Applied Bacteriology*, **68**, 101-116.

CAPÍTULO I - ADIÇÃO DE NATAMICINA E *Lactobacillus buchneri* NA FERMENTAÇÃO, ESTABILIDADE AERÓBIA E QUALIDADE DA SILAGEM DE MILHO

RESUMO

O objetivo deste ensaio foi avaliar os efeitos da adição da bacteriocina natamicina e da bactéria heterolática *Lactobacillus buchneri* no perfil fermentativo, composição e tempo de estabilidade aeróbia da silagem de milho (*Zea mays*). O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições. Os aditivos avaliados foram: controle (sem aditivos); natamicina (8g/t da massa verde); *L. buchneri* (5×10^4 ufc/g da massa verde); e adição conjunta do *L. buchneri* (5×10^4 ufc/g) com a natamicina (8 g/t). As variáveis analisadas foram perdas totais de matéria seca, perdas gasosas, produção de efluentes na fermentação, composição bromatológica, contagem de leveduras da silagem e estabilidade aeróbia. As menores perdas fermentativas e gasosas foram encontradas no tratamento combinado da natamicina com o *L. buchneri*, que resultaram em menor perda total de matéria seca, maior teor de hemicelulose na silagem, menor pH, menor contagem de leveduras da abertura dos silos até o terceiro dia de exposição aeróbia e aumento do tempo de estabilidade aeróbia da silagem.

Palavras-chave: Composição bromatológica, fração fibrosa, inoculante, perdas fermentativas, leveduras.

EFFECT OF NATAMYCIN AND *Lactobacillus buchneri* ON FERMENTATION, AND AEROBIC STABILITY AND QUALITY OF CORN SILAGE

ABSTRACT

This trial aimed to evaluate the bacteriocin natamycin and the *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, chemical composition and aerobic stability of maize silage. The trial was performed in a four-treatment completely randomized design with four replicates per each treatment. The treatments were: control (no additives); natamycin (8 g t^{-1}); *L. buchneri* ($5 \times 10^4 \text{ cfu g}^{-1}$); and natamycin (8 g t^{-1}) plus *L. buchneri* ($5 \times 10^4 \text{ cfu g}^{-1}$). Was measured total dry matter (DM) losses, gases losses, effluents, chemical composition, yeasts counts and aerobic stability of the silages. The treatment natamycin plus *L. buchneri* showed less total DM and gases losses. The hemicelulose content of this treatment was preserved after ensilage, and the yeasts counts were lower in the opening day and three days after aerobic exposition ($P < 0,05$). Natamycin increased the aerobic stability and this effect was increased by *L. buchneri* addition. The natamycin and *L. buchneri* addition in maize silages showed positive effects on DM losses and inhibit yeasts growth after silo opening.

Key words: Chemical composition, fermentative losses, inoculant, fiber, yeasts.

3. INTRODUÇÃO

A ensilagem é um método de conservação de forragem muito utilizado para a alimentação de ruminantes em períodos de escassez de alimento. Devido ao alto valor nutritivo e aceitabilidade pelos animais, o milho é a espécie forrageira mais utilizada na confecção de silagens para alimentação de animais (Barbosa *et al.*, 2011).

Com alta produção de ácido láctico durante a fermentação e a presença de carboidratos solúveis residuais, a silagem de milho é vulnerável a deterioração, quando exposta em aerobiose. Esse processo é iniciado pelas leveduras, que metabolizam o ácido láctico e carboidratos solúveis, elevando o pH da silagem e reduzindo o valor nutritivo do material (Ranjit *et al.*, 2002). Segundo Siqueira *et al.* (2005), a deterioração da silagem quando exposta ao oxigênio atmosférico, resulta em perda substancial de matéria seca indicada pela produção de calor. Jobim e Gonçalves (2003) afirmam que as leveduras suportam baixos níveis de pH e são consideradas também, anaeróbias facultativas por suportarem baixos índices de oxigênio por períodos prolongados.

Os aditivos microbianos e químicos nas silagens têm sido utilizados com a intenção de reduzir perdas de valor nutritivo, melhorar o tempo de estabilidade aeróbia e inibir microrganismos espoliadores. Os inoculantes bacterianos são os principais aditivos usados em silagens (Muck e Kung, 1997), contendo bactérias ácido lácticas que garantem a rápida queda do pH do material ensilado.

Bactérias heterofermentativas têm sido avaliadas buscando aumentar o tempo de estabilidade aeróbia das silagens. Muck e Kung (1997) descrevem que inoculantes produtores de ácido acético são mais efetivos do que os produtores de láctico na inibição de leveduras e fungos. Dentre os microrganismos heteroláticos usados na ensilagem, destaca-se o *Lactobacillus buchneri* (Oude Elferink *et al.*, 2001; Pedroso, 2003).

Além de inoculantes microbianos, outras substâncias têm sido pesquisadas como aditivos com finalidades específicas no processo de ensilagem. Os antibióticos, considerados inibidores da fermentação e deterioração aeróbia, são pouco explorados na produção silagens (McDonald *et al.*, 1991).

A natamicina é uma bacteriocina originada de culturas de *Streptomyces natalensis*, com princípio ativo pimaricina, possuindo efeito no ergosterol, presente na parede celular de fungos e leveduras, porém, não em bactérias (Welscher *et al.*, 2008). Sua ação altera a permeabilidade da membrana celular, provocando perda de materiais celulares essenciais. A natamicina é amplamente utilizada na conservação de alimentos como queijos (Var *et al.*, 2006), salames (Brustolin, 2009), sucos e vinhos (Medina *et al.*, 2007), uma vez que, essa bacteriocina é efetiva no controle de extensa lista de cepas de bolores e leveduras.

A utilização da natamicina é permitida na União Europeia para o tratamento superficial de alimentos lácteos como os queijos (European Commission, 1995). De acordo com a Agência Europeia de Análises de Produtos Médicos (EAEMP, 1998), a absorção da natamicina no sistema digestório de mamíferos é bastante deficiente, tornando seguro o seu uso em alimentos destinados a humanos e animais. Em um estudo com bovinos fistulados, a administração de altas doses de natamicina intraruminal, foi verificada baixa absorção do princípio ativo pimaricina pela mucosa dos animais, sendo identificados níveis extremamente baixos do composto nos fluidos corporais como sangue, urina e leite (EAEMP, 1998).

São raros os trabalhos encontrados na literatura que avaliaram o uso da natamicina como aditivo para silagens. Woolford *et al.* (1980) avaliaram o tratamento de silagens de capim e milho com o princípio ativo pimaricina, verificando a diminuição no número de fungos e leveduras em exposição aeróbia. Em outro estudo realizado por D'Urso *et al.* (1990), foi verificado aumento no tempo de estabilidade aeróbia na silagem de tritcale aditivada com natamicina em relação a silagem controle.

O presente estudo objetivou avaliar os efeitos da utilização da natamicina associada ao *Lactobacillus buchneri* na silagem de milho, avaliando a composição bromatológica, perdas durante o processo fermentativo, tempo de estabilidade aeróbia e contagem de leveduras após a abertura dos silos.

3.1. MATERIAL E MÉTODOS

3.1.1. Descrição do experimento

O experimento foi realizado por integrantes do Centro de Pesquisas em Forragicultura (CPFOR) da Universidade Federal do Paraná, Estado do Paraná, Brasil. O milho proveniente de uma propriedade no município de Castro no Paraná, foi colhido por ensiladeira automotriz, regulada com tamanho teórico de partículas de aproximadamente 12 mm para a produção da silagem. A forragem picada foi pesada separadamente para a montagem de quatro tratamentos: (C) Silagem sem aditivos, denominada como controle; (LB) silagem inoculada com *Lactobacillus buchneri* (5×10^4 ufc/g massa verde - MV); (NA) silagem aditivada com Natamicina (8 g/t MV); (NLB) silagem aditivada com Natamicina (8 g/t MV) e *L. buchneri* (5×10^4 ufc/g MV).

As soluções preparadas dos tratamentos foram aspergidas e homogeneizadas na forragem picada, utilizando materiais estéreis. A forragem foi ensilada em silos experimentais de polietileno (290 mm de diâmetro e 340 mm de altura) com capacidade para 20 litros, providos de tampa com válvula tipo Bunsen para a vazão dos gases produzidos durante a fermentação. Em cada silo foi colocado 12,5kg de forragem, garantindo massa específica de 625 kg/m^3 . No momento da ensilagem foram coletadas amostras para análise do teor de matéria seca (MS) e composição bromatológica.

No fundo dos silos experimentais foram sobrepostos uma placa vazada de PVC, uma tela de nylon e um pano de algodão para coleta de efluentes produzidos no processo fermentativo. A compactação foi realizada com os pés, protegidos por botas de plástico estéreis descartáveis. Os silos foram vedados com fita adesiva, pesados e armazenados em galpão coberto.

3.1.2. Análises

Decorridos 90 dias de armazenamento, os silos foram pesados individualmente para determinação de perdas de MS e estimativa de perdas por gases e efluentes segundo Jobim *et al.* (2007). O pH foi determinado logo após a abertura dos silos, pelo método proposto por Kung Jr. *et al.* (1984) por meio de

potenciômetro. Foram coletadas amostras de 500g das silagens de milho previamente homegeneizadas para prensagem e extração do suco, para análises dos compostos orgânicos voláteis. Foi realizado o teor de matéria seca em estufa de circulação forçada à 55°C por 72 horas. As amostras secas foram moídas em moinho do tipo Willey com peneira de 1mm de diâmetro e utilizadas nas análises bromatológicas.

3.1.3. Análises de composição química

Para composição química, as amostras foram analisadas em duplicata no Laboratório de Nutrição Animal da UFPR, sendo determinado o teor de proteína bruta (PB) pelo método de Dumas (Wiles *et al.*, 1998); o teor de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), de acordo com a metodologia de Van Soest *et al.* (1991) descrita por Holden (1999); a hemicelulose (HEM) foi determinada pela diferença do teor de FDN pelo teor de FDA. O extrato etéreo (EE), matéria seca (MS) e resíduo mineral (RM) foram processados segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

Para a extração do suco prensado de silagem foi utilizado prensa hidráulica e equipamentos apropriados para coleta. O suco foi pipetado e armazenado em tubos tipo Eppendorf de 5 mL, com presença de ácido fórmico (98% - marca Merck®) na proporção de 0,2 mL de ácido fórmico para 1 mL de suco de silagem como conservante, mantidos em congelador a -20°C. As amostras foram enviadas ao Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FZEA/USP), em Pirassununga/SP, para análise dos ácidos orgânicos (ácidos láctico, acético, propiônico e butírico), realizados segundo metodologia descrita por Palmquist e Conrad (1971) por cromatografia gasosa.

A planta de milho utilizada na ensilagem apresentou composição bromatológica (média±desvio padrão), de: 34,9±2,83% para MS; 6,9±0,88% PB; 56,8±3,12% FDN; 22,2±0,98% FDA; 34,6±2,83% HEM; 2,7±0,15% EE e 2,7±0,3% para RM.

3.1.4. Avaliação da estabilidade aeróbia

A avaliação da estabilidade aeróbia foi realizada baseada na metodologia de Kung Jr. *et al.* (2000), com 4 kg de amostra de cada repetição previamente aeradas manualmente. As amostras foram alocadas em um silo experimental aberto, sem compactação, sendo inserido um termômetro no centro da massa e realizada a aferição da temperatura durante 5 dias em intervalos de 3 horas. As amostras foram mantidas em sala climatizada a $23\pm1^{\circ}\text{C}$. A estabilidade aeróbia foi definida como o tempo em horas para a elevação da temperatura da massa em 2°C em relação ao ambiente. A variável temperatura acumulada foi determinada pela soma de todas as aferições de temperatura, durante a avaliação da estabilidade aeróbia, sendo determinada também a temperatura máxima obtida durante o período de exposição aeróbia.

3.1.5. Contagem de colônias de leveduras

Para a análise de contagem de colônias de leveduras, as amostras foram embaladas a vácuo e encaminhadas imediatamente para o Laboratório de Microbiologia Veterinária da UFPR. No laboratório, as amostras foram armazenadas em potes plásticos com capacidade de 500 mL a uma temperatura constante de $23\pm1^{\circ}\text{C}$, para simular a exposição aeróbia da silagem, a contagem de leveduras foi realizada no dia zero (T0), dia três (T1) e dia cinco (T2) após a abertura dos silos experimentais.

O preparo das amostras para a contagem de leveduras consistiu em diluição prévia, pesando 25g de silagem em 225 mL de solução salina estéril (8,5 g de NaCl/1 litro de água destilada) obtendo uma diluição de 1/10. Após a agitação e filtragem da solução em papel filtro, foram retirados 2 mL do caldo obtido para as diluições em série. As diluições variaram entre 10^{-1} e 10^{-7} conforme o dia da amostragem, aumentando as diluições na sequência dos dias de exposição aeróbia do material.

O plaqueamento foi realizado em triplicata *pour plate* no meio de cultura de ágar Sabouraud (Himedia) com adição de ácido tartárico 10% na proporção de 1mL de ácido para cada 100mL de ágar, para atingir pH de 4,5, sendo armazenados em

incubadora (BOD) com temperatura controlada a 26°C por 144 horas. A contagem das leveduras foi expressa em unidades formadoras de colônias por grama de silagem (UFC/g), considerando o valor médio da contagem nas três placas.

3.1.6. Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Os valores de microbiologia foram transformados em logaritmo na base dez (\log_{10}) por grama de massa verde (MV) de silagem. Os dados foram analisados pelo programa Statistix 9.0, sendo avaliada a normalidade pelo teste Shapiro Wilk e homogeneidade pelo teste de Bartlett. As variáveis homogêneas com distribuição normal foram submetidas à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de significância de 5% de probabilidade.

3.2. RESULTADOS

A composição química das silagens está representada pela Tabela 1. Em relação ao teor de MS inicial da forragem, os tratamentos NA, LB e NLB apresentaram redução do teor de MS durante o processo de ensilagem, enquanto que o tratamento controle apresentou aumento de MS durante o mesmo processo. O teor de PB apresentou valores menores em relação aos outros tratamentos.

Com maior teor de FDN e hemicelulose, o tratamento NLB apresentou diferença ($P < 0,05$) em relação aos outros tratamentos, verificando menor perda da hemicelulose durante o processo fermentativo da silagem. Os tratamentos controle e LB apresentaram teor de FDA maior e menor respectivamente, diferindo entre si, entretanto, apresentaram semelhança entre os outros tratamentos.

Tabela 1. Composição química (% da MS) da silagem de milho após 90 dias de armazenamento

Variáveis ²	Tratamentos ¹				EPM	P
	C	NA	LB	NLB		
MS	36,9 ^a	31,1 ^c	31,7 ^c	33,1 ^b	0,59	0,0001
PB	6,3 ^c	8,8 ^a	8,5 ^a	7,9 ^b	0,63	0,0001
FDN	46,3 ^b	43,6 ^b	45,4 ^b	49,6 ^a	0,64	0,0006
HEM	24,1 ^{bc}	21,7 ^c	24,7 ^b	27,8 ^a	0,63	0,0002
FDA	22,1 ^a	21,9 ^{ab}	20,7 ^b	21,8 ^{ab}	0,19	0,0287
EE	3,8	3,7	3,7	3,7	0,05	0,5312
RM	2,6 ^b	3,2 ^a	3,0 ^{ab}	3,1 ^{ab}	0,07	0,0112
pH	3,85 ^a	3,85 ^a	3,83 ^{ab}	3,76 ^b	0,01	0,0001
Ácido Lático	3,85 ^b	4,81 ^{ab}	3,74 ^b	5,44 ^a	0,48	0,0124
Ácido Acético	1,15	1,48	1,43	1,27	0,12	0,0660
Ácido Propiônico	0,08 ^b	0,08 ^b	0,09 ^b	0,11 ^a	3,50	0,0067

¹C, controle; NA, Natamicina; LB, *Lactobacillus buchneri*; NLB, Natamicina + *L. buchneri*.

²MS, Matéria Seca; PB, Proteína Bruta; FDN, Fibra em Detergente Neutro; HEM, Hemicelulose; FDA, Fibra em Detergente Ácido; EE, Extrato Etéreo; RM, Resíduo Mineral; EPM, Erro Padrão da Média. Médias com letras diferentes nas linhas diferem estatisticamente pelo teste Tukey (P<0,05).

Os valores de EE foram semelhantes entre os tratamentos, com média de 3,7% da MS. O RM do controle e do tratamento NA, respectivamente menor e maior, diferiram entre si e foram semelhantes entre os outros tratamentos.

O pH do tratamento NLB apresentou o menor valor (3,76) entre os tratamentos, semelhante ao tratamento LB. A produção de ácido lático na silagem durante a fermentação foi maior no tratamento NLB (5,44) em relação ao tratamento controle (3,85). As silagens aditivadas com natamicina apresentaram semelhanças nos resultados para produção de ácido lático. Os teores de ácido acético apresentaram valores considerados normais para silagens de milho, sem diferença entre os tratamentos. O teor de ácido propiônico da silagem foi maior no tratamento NLB em relação aos outros tratamentos. Não foi identificado produção de ácido butírico nas silagens do ensaio.

Os valores na contagem de colônias de leveduras da silagem de milho após a exposição aeróbia estão apresentados na Tabela 2. O tratamento NLB apresentou menor número na contagem de leveduras nos três dias de análises, com diferenças entre todos os tratamentos.

Tabela 2. População de leveduras (\log_{10}/g MV) da silagem de milho no momento da abertura dos silos (dia 0) e após 3 e 5 dias de exposição aeróbia.

	Tratamentos				EPM	P
	C	NA	LB	NLB		
Dia 0	2,95 ^a	2,23 ^a	1,92 ^{ab}	0,26 ^b	0,31	0,0043
Dia 3	7,67 ^a	6,63 ^{ab}	6,47 ^{ab}	5,99 ^b	0,23	0,0441
Dia 5	6,85 ^b	8,74 ^a	7,78 ^{ab}	6,32 ^b	0,29	0,0037

C, controle; NA, Natamicina; LB, *Lactobacillus buchneri*; NLB, Natamicina + *L. buchneri*; EPM, Erro Padrão da Média.

Médias com letras diferentes nas linhas, diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Os resultados mostram que nas contagens do dia 0 e 3, o tratamento NLB apresentou menor número de colônias de leveduras em relação ao tratamento C. No entanto, ambos foram semelhantes aos tratamentos NA e LB no segundo dia de contagem. No quinto dia de exposição aeróbia da silagem, os tratamentos NLB e LB foram semelhantes ao tratamento controle, o tratamento NA apresentou maior contagem de leveduras em relação aos outros tratamentos neste mesmo dia de coleta.

Na Tabela 3 estão expressos os resultados de perdas durante o processo fermentativo anaeróbio das silagens. O tratamento NLB apresentou o menor valor de PMS e gases. A variável produção de efluente não foi significativa, apresentando valor médio entre os tratamentos de 1,76 kg/t de MV.

Tabela 3. Resultados de perdas fermentativas na silagem de milho com 90 dias de ensilagem.

Variáveis ²	Tratamentos ¹				EPM	P
	C	NA	LB	NLB		
PMS %	6,89 ^b	7,06 ^b	8,88 ^b	2,10 ^a	0,70	0,0001
Gases % da MS	6,75 ^b	6,85 ^b	8,71 ^b	1,95 ^a	0,69	0,0001
Efluente, kg/t MV	1,43	2,2	1,87	1,54	0,13	0,1190

¹C, controle; NA, Natamicina; LB, *Lactobacillus buchneri*; NLB, Natamicina + *L. buchneri*.

²MS, Matéria Seca; MV, Matéria Verde; PMS, Perda de Matéria Seca; EPM, Erro Padrão da Média. Médias com letras diferentes nas linhas, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Na Tabela 4 são mostradas as variáveis de estabilidade aeróbia das silagens. Os tratamentos não apresentaram diferenças entre si para as variáveis temperatura acumulada e temperatura máxima. Entretanto, foi verificado que o tratamento NLB apresentou maior tempo de estabilidade aeróbia.

Tabela 4. Valores de estabilidade aeróbia (5 dias) da silagem de milho após 90 dias de ensilagem.

Variáveis	Tratamentos ¹				EPM	P
	C	NA	LB	NLB		
Temp. °C Acumulada	1215	1215	1205	1159	9,42	0,1026
Temp. °C Máxima	36	41	40	42	1,29	0,3601
Estabilidade Aeróbia, horas	51 ^b	54 ^{ab}	52 ^b	64 ^a	1,86	0,0230

¹C, controle; NA, Natamicina; LB, *Lactobacillus buchneri*; NLB, Natamicina + *L. buchneri*.

EPM, Erro Padrão da Média.

Médias com letras diferentes nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

3.3. DISCUSSÃO

O efeito do *L.buchneri* com a natamicina demonstrou redução da perda fermentativa (Tabela 3), com pequena alteração no teor de MS da silagem (Tabela 1) quando comparado com a forragem fresca. Possivelmente, a natamicina inibiu o crescimento de leveduras na fase aeróbia da ensilagem, que resultou em maior preservação dos carboidratos solúveis, utilizados como fonte de substrato pelas bactérias, com redução mais rápida do pH.

Apesar de autores como Mendes *et al.* (2008) afirmarem que a adição de *Lactobacillus buchneri* pode evitar perdas fermentativas no teor de matéria seca, o tratamento LB do presente estudo não apresentou essa redução, com perda de 3,2 pontos percentuais do teor de MS da silagem em comparação a forragem fresca. O mesmo resultado ocorreu com o tratamento NA (3,8%). Porém, o tratamento controle, apresentou aumento no teor de MS da silagem quando comparado com a forragem fresca no momento da ensilagem. Possivelmente isso ocorreu devido a uma falha de amostragem da silagem nesse tratamento, dificultando o entendimento de alguns resultados de composição química. Em um trabalho com silagem de milho, Ranjit *et al.* (2002) utilizaram dosagens de *L. buchneri* e verificaram que os teores de MS não diferiram entre os tratamentos. No entanto, esses mesmos autores verificaram que as silagens com aditivo, apresentaram redução no teor de MS, o que não ocorreu na silagem controle.

Os valores de composição química mostram que os tratamentos com presença de aditivos apresentaram valores mais altos de PB, principalmente os

tratamentos NA e LB. A proteína pode ser degradada por microrganismos proteolíticos, principalmente clostrídios e fungos, que por sua vez, começam seu desenvolvimento em níveis de pH mais elevados (Mc Donald *et al.*, 1991). A utilização de aditivos proporciona o controle desses microrganismos devido a uma rápida redução do pH na fermentação, controlando a degradação da proteína da silagem. Durante o processo fermentativo, a metabolização pelas bactérias por componentes da matéria seca como os açúcares, pode também ser um fator para o aumento na concentração de proteína na matéria seca da silagem.

Os teores de FDN da silagem apresentaram redução quando comparado com a forragem fresca. Esse efeito é decorrente da solubilização e desaparecimento da fração hemicelulose durante a ensilagem. O tratamento NLB apresentou o maior teor de hemicelulose entre os tratamentos, além da menor perda dessa fração durante o processo fermentativo. A adição do *L.buchneri* e da natamicina isoladamente, não proporcionaram diferenças no teor de FDN e hemicelulose quando comparado ao controle. Resultado semelhante foi verificado por Ranjit *et al.* (2002) e Reich e Kung Jr. (2010), onde utilizaram *L. buchneri* na ensilagem de milho e não encontraram diferenças significativas nos teores de FDN em relação à silagem sem aditivos. Entretanto, Filya e Sucu (2010) avaliaram inoculantes em silagens de milho com diversos tempos de fermentação, não observaram diferenças significativas nos teores de FDN entre as silagens inoculadas em relação ao controle, porém, verificaram redução no pH e aumento da digestibilidade do FDN devido a solubilização da hemicelulose no processo de ensilagem.

Em um estudo utilizando cana de açúcar inoculada com *L.buchneri*, Siqueira (2005) verificou redução nos teores de FDN e FDA na silagem, de 8,4 e 3,1 pontos percentuais respectivamente. A utilização de aditivos químicos e inoculantes proporciona maior solubilização nos teores de FDA em comparação às silagens sem aditivos, devido a maior produção de ácidos durante a fermentação. Esse fato pode ter ocorrido pela adição da natamicina e do *L. buchneri* durante a ensilagem.

A natamicina com ação somente sobre as leveduras favorece o processo fermentativo de bactérias lácticas na silagem. A menor perda da fração hemicelulose no tratamento NLB durante a fermentação, pode ser explicada pelo sinergismo entre a natamicina e o *L. buchneri*, que proporcionou maior produção de ácidos. Possivelmente acentuou a rápida queda do pH (Tabela 1) e por sua vez, a reduziu da fermentação de compostos solúveis do material ensilado.

A redução no crescimento de leveduras ocorrido pela adição da natamicina na ensilagem diminui a degradação do lactato após a fermentação. Hondrodinou *et al.* (2011) afirmam que a ação da natamicina contra as leveduras, proporciona um ambiente favorável para as bactérias ácido lácticas (BAL), diminui a competição entre os dois grupos e favorece a fermentação láctica e redução do pH do produto fermentado. Esses dados corroboram com os do experimento, que apresentam maior produção de ácidos e menor pH na silagem aditivada com natamicina e em associação ao *L. buchneri*. O maior teor de ácidos láctico e propiônico no tratamento NLB, mostra uma melhor ação da natamicina em conjunto com o LB no controle de leveduras, que favorece o crescimento de bactérias homoláticas e heteroláticas. A produção de ácido láctico foi menor em relação do encontrado por Junges (2010) com 7,67% da MS. Entretanto, o ácido propiônico apresentou maior em relação ao experimento do autor que verificou um teor de 0,05% da MS. Os teores desse ácido, ainda podem ser considerados altos para uma silagem de milho inoculada com *L. buchneri*. Filya (2003) observou em silagem de milho aditivada com *L. buchneri* a produção de ácido láctico em torno de 2,4% da MS da silagem, o que mostra que a adição da natamicina no atual experimento, favorece as BAL na fermentação. Em outro experimento realizado por Filya *et al.* (2006), os teores de lactato da silagem foram maiores (9,2% MS) em relação ao tratamento NLB do estudo em questão, porém os autores utilizaram um inoculante a base de BAL homofermentativas. Ainda, D'Urso *et al.* (1990) utilizaram princípio ativo pimarcina na ensilagem de tritcale e observaram valores de ácido láctico (4,41% MS) e acético (1,87% MS) semelhantes aos encontrados no presente experimento. Não foi detectada a presença de ácido butírico nas silagens (Tabela 1), o que indica a ausência de fermentação clostrídica e silagem de excelente qualidade fermentativa. O baixo pH nas silagens de milho evita o crescimento de clostrídios, diminuindo as chances de produção do butirato (HU *et al.*, 2009).

Em um estudo realizado por Driehuis *et al.* (2001), a inoculação de *L. buchneri* na ensilagem de milho proporcionou a diminuição na contagem de fungos e leveduras, devido a capacidade da bactéria inoculada converter ácido láctico em ácido acético, efetivo no controle de leveduras e fungos. No entanto, os teores de ácido acético verificados no experimento, não apresentaram diferença entre os tratamentos, mostrando baixa eficiência do *L. buchneri* em alterar a composição dos ácidos na silagem.

Conforme apresentado na Tabela 2, a adição em conjunto da natamicina e do *L. buchneri* na ensilagem de milho, reduziu substancialmente o desenvolvimento de leveduras nos dias 0 e 3 após a abertura dos silos. Não sendo observado o mesmo resultado quando os aditivos foram aplicados separadamente. A natamicina apresenta um pKa de 4,6 segundo Brik (1981). Baseado nessa afirmação, a eficiência da natamicina pode ter sido inviabilizada no controle de leveduras das silagens devido ao baixo pH. Filya (2003) verificou que ao adicionar *L. buchneri* na ensilagem de trigo, sorgo e milho, houve redução na contagem de fungos e leveduras das silagens. Woolford *et al.* (1980) avaliaram diversas dosagens de pimarcina em silagens e não verificaram resultados efetivos no controle de leveduras e fungos em silagem de milho, sendo somente encontrado em silagem de azevém na dosagem de 270 g/t em sua composição. Reich e Kung Jr. (2010) compararam silagens de milho com e sem aditivos e verificaram baixas contagens de leveduras e altas contagens de bactérias ácido lácticas nas silagens tratadas com *L. buchneri* 40788. Esse resultado também foi verificado por outros autores (Ranjit *et al.*, 2002; Filya e Sucu, 2010; Bernardes, 2006; Muck, 2004) que utilizaram *L. buchneri* em silagens de milho. Apesar de uma possível redução na efetividade da natamicina após o processo fermentativo, pelo fato do baixo pH da silagem, o aditivo pode ter influenciado diretamente nos produtos obtidos durante a fermentação da massa, como verificado na Tabela 1, com uma maior produção de ácidos láctico e propiônico, ocorrido possivelmente por favorecimento das BAL. A maior quantidade de ácido propiônico pode influenciar positivamente no controle de desenvolvimento de leveduras após a exposição aeróbia, como observado na Tabela 2.

Com maior contagem de leveduras no quinto dia de exposição aeróbia da silagem de milho, o tratamento NA não diferiu do tratamento LB. Var *et al.* (2006) utilizaram natamicina em superfície de queijos e verificaram que o desenvolvimento de leveduras foi controlado por um período máximo de 60 dias após a aplicação.

Kleinschmit e Kung (2006) relataram que silagens de milho inoculadas com *L. buchneri* reduziram em até 10 vezes a contagem de leveduras em relação à silagem não tratada. Além de promover a redução na produção de etanol durante o processo fermentativo (Ávila *et al.*, 2009). No entanto, o presente ensaio mostrou que esse microrganismo isolado, não apresentou diferença na contagem de leveduras em comparação à silagem controle. Possivelmente, esse efeito é decorrente da menor

dosagem aplicada (5×10^4 UFC/g) em relação aos ensaios citados, que trabalharam com doses superiores a 1×10^5 UFC/g de forragem.

Os menores valores de PMS e perda de gases no tratamento NLB ocorreram pela aplicação dos dois aditivos. Schmidt *et al.* (2012) não observaram redução nas perdas fermentativas de silagens de milho aditivadas com natamicina, porém os autores afirmam que o aditivo pode ser uma possível alternativa na mitigação de gases. Reich e Kung Jr. (2010) trabalharam com silagem de milho inoculada com *L. buchneri* e verificaram menor perda de matéria seca em relação à silagem sem aditivo. O sinergismo dos dois aditivos no presente estudo proporcionou controle no crescimento de leveduras e melhorou o efeito da fermentação durante a ensilagem. Dessa maneira, as perdas durante o processo fermentativo foram menores. Siqueira *et al.* (2007) verificaram aumento na recuperação de MS e diminuição na produção de gases, em silagens aditivadas com aditivos químicos em conjunto com *L. buchneri*.

McDonald *et al.* (1991) afirmaram que a fermentação heterolática pode gerar maiores perdas de matéria seca devido a produção de gases (CO_2 e H_2). O efeito observado na redução de perdas fermentativas da silagem com adição da natamicina em conjunto com o *L. buchneri*, não foi verificada nas silagens com aditivos isolados. Sendo encontrada alta taxa de perdas fermentativas do tratamento LB. Bernardes (2006) e Ranjit *et al.* (2002) em silagem de milho tratadas com *L. buchneri*, não observaram redução na perda de matéria seca em relação a silagem controle.

As perdas por produção de efluente não apresentaram diferenças entre os tratamentos. Efeito também encontrado por Santos *et al.* (2008), verificando que a produção de efluentes de silagens aditivadas com compostos químicos e microbianos, não diferiram em relação a silagem controle.

O crescimento de fungos e leveduras de acordo com Bernardes (2006), gera aumento da temperatura da massa ensilada, sendo esses microrganismos os principais responsáveis pelo ataque ao lactato e início da deterioração aeróbia. O tratamento NLB apresentou maior tempo estável em exposição aeróbia (64h), quando comparado com o controle (51h) e o tratamento LB (52h).

Segundo Muck (2004), o *L. buchneri* com capacidade em controlar leveduras das silagens, possui efeito positivo sobre o tempo de estabilidade aeróbia. Porém no presente ensaio, esse microrganismo de forma isolada não foi efetivo em aumentar

o tempo de estabilidade aeróbia das silagens. Ranjit *et al.* (2002) avaliaram silagens de milho aditivadas com *L. buchneri* e constataram padrão fermentativo satisfatório, além de aumento no tempo de estabilidade, chegando a 84 horas de exposição aeróbia e com temperatura da silagem estável. Resultado também encontrado por Filya e Sucu (2010) que utilizaram *L. buchneri* na ensilagem e verificaram redução na contagem de leveduras e fungos, o que afetou positivamente o tempo de estabilidade aeróbia da silagem de milho.

3.4. CONCLUSÃO

A adição da bactéria heterolática *Lactobacillus buchneri* combinada com a natamicina promove redução nas perdas fermentativas e aumento na estabilidade aeróbia da silagem de milho, além de reduzir o crescimento de leveduras até o terceiro dia de exposição aeróbia da silagem.

Mais estudos são necessários para avaliar os efeitos na qualidade das silagens aditivadas com natamicina e verificar sua influência no processo fermentativo. Além de estudos com desempenho animal utilizando silagem aditivada com natamicina, como principal fonte de volumoso, o que não é encontrado até o momento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁVILA C. L. S., PINTO J. C., FIGUEIREDO H. C. P. and SCHWAN R. F. (2009) Effects of an indigenous and a commercial *Lactobacillus buchneri* strain on quality of sugar cane silage, *Grass and Forage Science*, **64**, 384–394.
- BARBOSA L. A., REZENDE V. A., RABELO C. H. S., RABELO F. H. S. and NOGUEIRA D. A. (2011) Estabilidade aeróbia de silagens de milho e soja exclusivas ou associadas (Aerobic stability of corn and soybean silage mixed at different ratios), *Ars Veterinaria*, **27**, 255-262.

BERNARDES T. F. (2006) Controle da deterioração aeróbia de silagens (Aerobic deterioration control of silages). In: Jaboticabal: *Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Tese (Doutorado em Zootecnia)*, 2006, 103p.

BRIK H. (1981) Natamycin. In: FLORY K. (ed) *Analytical profiles of drug substances*. Academic Press, New York, 10, p 513.

BRUSTOLIN, J. C. (2009) Uso da natamicina no controle do desenvolvimento de fungos em salame tipo italiano (Use of natamycin in controlling mold growth in Italian salami) In: Santa Maria: *Universidade Federal de Santa Maria, Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)*, 2009, 53p.

D'URSO G., AVONDO M., LICITRA G. and SINATRA M. C. (1990) Effetti dell'aggiunta di Na-bentonite, acido formico e pimaricina sulle caratteristiche di fermentazione e sul deterioramento aerobico degli insilati di triticale (Effect of the addition of Na-Bentonite, formic acid and pimaricin on the fermentations characteristics and on the aerobic deterioration of triticale silage), *Zootecnica e Nutrizione Animale*, **16**, 99-106.

DRIEHUIS F., OUDE ELFERINK S. J. W. H. and VAN WIKESELAAR P. G. (2001) Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic-acid bacteria. *Grass and Forage Science*, **56**, 330–343.

European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EAEMP) (1998) EMEA/MRL/342/98-Final February. *Comitee for Veterinary Medicinal Products – Natamycin*.

European Commission, (1995) Directive (EC) No 95/2 of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners. *Off. J. Eur. Communities L6*.

FILYA I. (2003) The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic-acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. *Journal of Applied Microbiology*, **95**, 1080–1086.

FILYA I. (2003a) The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic-acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. *Journal of Applied Microbiology*, **95**, 1080–1086.

FILYA I. and SUCU E. (2010) The effects of lactic acid bacteria on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage, *Grass and Forage Science*, **65**, 446–455.

FILYA I., SUCU E. and KARABULUT A. (2006) The effects of *Propionibacterium acidipropionici* and *Lactobacillus plantarum*, applied at ensiling, on the fermentation and aerobic stability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **33**, 353-358.

HOLDEN L. A. (1999) Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *Journal of Dairy Science*, **82**, 1791-1794.

HONDRODIMOU O., KOURKOUTAS Y. and PANAGOU E. Z. (2011) Efficacy of natamycin to control fungal growth in natural black olive fermentation, *Food Microbiology*, **28**, 621-627.

HU W., SCHMIDT R. J., McDONELL E. E., KLINGERMAN C. M. and KUNG Jr. L. (2009) The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. *Journal Dairy Science*, **92**, 3907-3914.

JOBIM C. C. and GONÇALVES G. D. (2003) Microbiologia de Forragens Conservadas (Microbiology of Conserves Forages) In: REIS R. A., BERNARDES T. F., SIQUEIRA G. R. and MOREIRA A. L. *Proceedings Forages in Ruminant Production: Alimentary Value Forages. Jaboticabal, SP, Brazil, 2003*, pp. 1-26.

JOBIM C. C., NUSSIO L. G., REIS R. A. and SCHMIDT P. (2007) Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada (Methodological advances in evaluation of preserved forage quality). *Brazilian Journal of Animal Science*, **36**, 101-120.

JUNGES D. (2010) Aditivo microbiano na silagem de milho em diferentes tempos de armazenamento e avaliação da estabilidade aeróbia por termografia em infravermelho. In: Curitiba: *Universidade Federal do Paraná, Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)*, 2010, 100p.

KLEINSCHMIT D. H. and KUNG JR. L. (2006) A Meta-Analysis of the Effects of *Lactobacillus buchneri* on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn and Grass and Small-Grain Silages Original Research Article *Journal of Dairy Science*, **89**, 4005-401.

KUNG Jr. L., ROBINSON Jr., RANJIT N.K., CHEN J. H., GOLT C. M. and PESEK J. D. (2000) Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. *Journal of Dairy Science*, **83**, 1479-1486.

KUNG Jr., L., GRIEVE, D. B., THOMAS, J. W. and HUBER J. T. (1984) Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. *Journal of Dairy Science*, **67**, 299-306.

MCDONALD P., HENDERSON A. R. and HERON S. J. E. (1991) *Biochemistry of silage*, 2nd edn. Marlow, UK: Chalcombe Publications.

MEDINA A., JIMENEZ M., MATEO R. and MAGAN N. (2007) Efficacy of natamycin for control of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains under different environmental conditions, *Journal of Applied Microbiology*, **103**, 2234–2239.

MENDES C. Q., SUSIN, I, NUSSIO L. G. PIRES A. V, RODRIGUES G. H and URANO, F. S (2008) Efeito do *Lactobacillus buchneri* na fermentação, estabilidade aeróbia e no valor nutritivo de silagem de cana-de-açúcar (Effect of *Lactobacillus buchneri* on fermentation, aerobic stability, and nutritive value of sugar cane silage) *Brazilian Journal of Animal Science*, **37**, 2191-2198.

MUCK R. E. (2004) Effects of corn silage inoculants on aerobic stability, *American Society of Agricultural Engineers*, **47**, 1011–1016.

MUCK R. E. and KUNG JR. L. (1997) Effects of silage additives on ensiling. In: *Proceedings Silage: Field to feedbunk North America conference, Hershey, PA, USA, 1997*, pp 187-199.

OUDE ELFERINK S. J. W. H., KROONEMAN J., GOTTSCHAL J. A., SPOELSTRA S. F. and FABER F. (2001) Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied Environmental Microbiology*, **67**, 125–132.

PALMQUIST D. L. and CONRAD H. R. (1971). Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high grain or high fat diets. *Journal of Dairy Science*, **54**, 1025-1033.

PEDROSO A. F. (2003) Aditivos químicos e microbianos no controle de perdas e na qualidade de silagem de cana-de-açúcar (Chemical and microbial additives to control losses and quality of sugar cane silage) *Animal Science and Pastures, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Tese (Doutorado em Agronomia)*, 2003, 120 p.

RANJIT N. K., TAYLOR C. C. and KUNG JR. L. (2002) Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage, *Grass and Forage Science*, **57**, 73–81.

REICH L. J. and KUNG Jr. L. (2010) Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage, *Animal Feed Science and Technology*, **159**, 105-109.

SANTOS M. C., NUSSIO L. G., MOURÃO G. B., SCHMIDT P., MARI J. L. and RIBEIRO J. L. (2008) Influência da utilização de aditivos químicos no perfil da fermentação, no valor nutritivo e nas perdas de silagens de cana-de-açúcar (Evaluation of chemical additives in the fermentation profile, nutritive value, and dry matters losses of sugar cane silages (*Saccharum officinarum* L.)). *Brazilian Journal of Animal Science*, **37**, 1555–1563.

SCHMIDT P., NOVINSKI C. O., CARNEIRO E. W. and BAYER C. (2012) Greenhouse gas emissions from fermentation of corn silage. In: K. KUOPPALA, M. RINNE and VANHATALO A. (eds) XVI International Silage Conference, Hämeenlinna, Finland, 2012, p428.

SILVA D. J. and QUEIROZ A. C. (2002) *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos* 3rd edn. Viçosa, MG: UFV Publications.

SIQUEIRA G. R., BERNARDES T. F. and REIS R. A. (2005) Instabilidade aeróbia de silagens: efeitos e possibilidades de prevenção (Aerobic instability of silages: effects and possible prevention). In: REIS, R. A.; SIQUEIRA, G. R.; BERTIPAGLIA, L. M. A. (Eds.). *Forages in ruminant productions*, 2005, pp 25-60.

SIQUEIRA, G. R. (2005) Cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) ensilada com aditivos químicos e microbianos (Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) ensiled with chemical and microbial additives) In: Jaboticabal: *Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"*, *Dissertação (Mestrado em Zootecnia)*, 2005, 92p.

VAN SOEST P. J., ROBERTSON J.B. and LEWIS B. A. (1991) Methods for dietary fibre, neutral-detergent fibre and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, **74**, 3583–3597.

VAR I., ERGINKAYA Z., GÜVEN M. and KABAK B. (2006) Effects of antifungal agent and packaging material on microflora of Kashar cheese during storage period, *Food Control*, **17**, 132–136.

WELSCHER Y. M., HENDRIK H. N., BALAGUE M. M., SOUZA C. M., RIEZMAAN H., KRUIJFF B. and BREUKINK E. (2008) Natamycin blocks fungal growth by binding specifically to ergosterol without permeabilizing the membrane, *The Journal of Biological Chemistry*, **283**, 6393-6401.

WILES, P. G., GRAY I. K. and KISSLING, R. C. (1998) Routine analysis of protein by Kjeldahl and Dumas methods: review and interlaboratory study dairy products *Journal of AOAC International*, **81**, 620-632.

WOOLFORD M. K., COOK J. E., HALL D. M. and BONIS A. (1980) The use of pimaricina as an additive to improve the aerobic stability of silage *Journal Science Food Agriculture*, **31**, 558-566.

CAPÍTULO II - PERDAS FERMENTATIVAS EM SILAGENS DE MILHO ADITIVADAS COM DIFERENTES DOSES DE NATAMICINA

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o uso da natamicina, como aditivo na ensilagem de planta inteira de milho (*Zea mays*) com baixo teor de matéria seca, armazenada em silos horizontais do tipo trincheira ou em silos experimentais. O delineamento experimental de ambos os ensaios foi inteiramente casualizado, com três tratamentos e uma repetição para os silos trincheira e três tratamentos com quatro repetições para os silos experimentais. Os tratamentos realizados foram: controle (sem aditivo); N4 (natamicina na dose de 4 g/ton de massa verde); e N8 (natamicina na dose de 8g/ton de massa verde). As variáveis analisadas foram perdas fermentativas, composição bromatológica e estabilidade aeróbia das silagens. Foi realizada contagem de leveduras semanalmente na silagem dos silos tipo trincheira. O teor de matéria seca das silagens mostrou-se abaixo do ideal, pela forte característica *staygreen* do híbrido utilizado. A adição da natamicina não proporcionou diferença ($P>0,05$) no pH das silagens de milho. As perdas fermentativas de matéria seca e produção de gases dos silos experimentais foram reduzidas ($P<0,01$) nas silagens aditivadas com maior dosagem de natamicina. A produção de efluentes não apresentou diferenças ($P>0,05$) entre os tratamentos. A adição da natamicina nos silos trincheira não reduziu as perdas de matéria seca e contagem de leveduras nas silagens. A perda de matéria seca média dos dois tipos de silos do experimento foi semelhante ($P<0,05$). A natamicina é efetiva em reduzir perdas fermentativas em silagens de milho de silos experimentais. A composição química das silagens de milho não é afetada pela adição da natamicina.

Palavras-chave: Baixa matéria seca, leveduras, silos experimentais, *staygreen*, trincheiras.

FERMENTATIVE LOSSES IN CORN SILAGES ADDITIVATED WITH DIFFERENT DOSES OF NATAMYCIN

ABSTRACT

This trial aimed to evaluate the natamycin as additive in ensiling whole plant corn (*Zea mays*) with low dry matter content, stored in horizontal silos as bunker or experimental silos. The trial design was completely randomized with three treatments and four replicates for experimental lab silos and three treatments and one replicate for bunker silos. The treatments were: control (no additive), N4 (natamycin with 4 g / ton⁻¹ dose of green mass) and N8 (natamycin with 8g/ton⁻¹ dose of green mass). Were analyzed fermentation losses, chemical composition and aerobic stability of silages. Yeast counts were weekly performed in silages of bunker silos. The dry matter content of the silages was below ideal, because the strong staygreen feature in hybrid. The natamycin addition provided no difference ($P>0.05$) in pH of corn silages. The losses of dry matter and gas production were reduced ($P<0.01$) in silages with higher dosage of natamycin. Effluent production did not differ ($P>0.05$) between treatments. The natamycin did not reduce dry matter losses and yeasts counts silages in bunker silos. The dry matter loss was similar on two different silos ($P<0,05$). Natamycin is able to reduce fermentation losses in corn silages of experimental silos. The chemical composition of corn silage is not affected by natamycin.

Key Words: Bunker silos, dry matter losses, experimental lab silos low dry matter, staygreen, yeasts.

4. INTRODUÇÃO

A silagem de milho é considerada um volumoso de alta qualidade nutricional e de grande escolha na nutrição de ruminantes. Devido ao seu alto valor energético, microrganismos espoliadores podem gerar grandes perdas no valor nutricional da forragem (McDonald *et al.*, 1991). Esse processo é iniciado pelas leveduras que elevam o pH da silagem pela metabolização do ácido láctico e carboidratos solúveis (Ranjit *et al.*, 2002), dessa forma, inicia o processo de degradação aeróbia e reduz o valor nutritivo do material (Woolford, 1990). As leveduras são extremamente tolerantes ao baixo pH da silagem, podendo haver crescimento em taxa de pH entre 3,5 e 8 (Bravo-Martins *et al.*, 2006), além disso, em alguns casos são consideradas anaeróbias facultativas (Jobim e Gonçalves, 2003).

A deterioração aeróbia da silagem, além de acarretar perdas de MS, pode permitir o aparecimento de substâncias produzidas por fungos aeróbios como micotoxinas que afetam a saúde animal (Filya, 2003a; Woolford, 1990). A degradação de carboidratos solúveis e ácidos orgânicos, pelos microrganismos espoliadores presentes na silagem, pode gerar aumento da temperatura do material ensilado (McGechan, 1990). Entretanto, Ashbell *et al.* (2002) afirmam que a temperatura ambiente pode ser também um fator importante na estabilidade aeróbia da silagem, facilitando o processo de degradação da matéria seca.

O teor de MS da forragem é um fator relevante a ser considerado no controle de perdas fermentativas da silagem (McGechan, 1990). Esse valor deve variar entre 30 e 35% na planta inteira do milho no momento da ensilagem (Nussio *et al.*, 2001). Forragens com baixo teor de MS entre 20 e 25% podem apresentar perdas significativas de efluentes (Weinberg e Ashbell, 2003). Além de diminuir a digestibilidade da matéria seca da silagem (Filya, 2004).

Recentemente híbridos de milho com características *staygreen* vem sendo utilizados na produção de silagens. Segundo Arriola (2006), o termo *staygreen* é utilizado para plantas de milho que possuem características do período de senescência atrasado, maior resistência a doenças e uma janela de corte mais extensa quando comparado a híbridos convencionais. O estado de maturação do híbrido *staygreen* é um dos problemas encontrados para a produção de silagens, segundo Wilkinson e Hill (2003), no momento em que o grão apresenta maturidade

ideal para ensilagem, a parte vegetativa da planta está relativamente imatura. Havilah e Kaiser (1994) reportam que o teor de MS do milho *staygreen* aumenta somente após o grão apresentar metade da linha do leite preenchida, momento este propício para o ótimo estágio de maturação do grão e confecção de silagem de boa qualidade (Holland *et al.*, 1990). Essa característica invalida a utilização da linha do leite de híbridos com *staygreen* para predizer a data de corte da forragem de milho destinada a ensilagem (Arriola, 2006).

Segundo Kung Jr. (2001), os aditivos são comumente utilizados para evitar perdas de qualidade da silagem e consequentemente do desempenho dos animais. Diversos aditivos químicos são testados, com a função de reduzir as perdas fermentativas no processo de ensilagem, melhorar o tempo de estabilidade aeróbia (Filya, 2003b) e inibir o crescimento de microrganismos como as leveduras (Woolford, 1990). Os antibióticos, segundo McDonald *et al.* (1991), são considerados inibidores da fermentação e inibidores de deterioração aeróbia, porém, seu uso ainda é pouco explorado em silagens.

A natamicina é uma bacteriocina com princípio ativo pimaricina, que provém de culturas de *Streptomyces natalensis* e possui ação no ergosterol, que é uma estrutura presente na parede celular de fungos e leveduras, e ausente em bactérias (Welscher *et al.*, 2008). Essa bacteriocina é amplamente utilizada na conservação de alimentos como queijos (Var *et al.*, 2006), salames (Brustolin, 2009), sucos e vinhos (Medina *et al.*, 2007) e azeitonas (Hondrodimou *et al.*, 2011), uma vez que possui efetividade no controle de extensa lista de cepas de bolores e leveduras.

De acordo com a Agência Europeia de Análises de Produtos Médicos (EAEMP, 1998), a absorção da natamicina no sistema digestivo de mamíferos é bastante deficiente, tornando seguro o seu uso em alimentos destinados a humanos e animais.

Apesar de suas vantagens no controle de microrganismos indesejáveis na fermentação, são raros os trabalhos encontrados na literatura que testaram o uso da natamicina como aditivo para silagens. Woolford *et al.* (1980) avaliaram silagens de capim e milho tratadas com pimaricina e verificaram redução na contagem de fungos e leveduras em exposição aeróbia, além de redução nas perdas fermentativas das silagens. Recentemente alguns estudos utilizaram a natamicina para reduzir as perdas fermentativas em silagens de milho (Schmidt *et al.*, 2013; Pinto *et al.*, 2013) e

silagens de cana-de-açúcar (Novinski *et al.*, 2013), porém com resultados pouco conclusivos.

Existem diversos tipos de silos para a confecção de silagem. Muitos fatores influenciam a escolha do tipo de silo a ser usado na propriedade. Segundo Bernardes *et al.* (2011), os silos horizontais são os que mais se adéquam a realidade da produção no Brasil, sendo muito utilizados também pelo seu baixo custo de construção. As perdas fermentativas ocorridas durante a ensilagem, podem ser afetadas em muitas vezes pelo tipo de silo utilizado (McDonald *et al.*, 1991; McGechan, 1990), em virtude da permeabilidade de oxigênio através da lona para o interior da massa ou pelo fechamento inadequado nas áreas marginais dos silos (Weinberg e Ashbell, 2003). Essas perdas, segundo Bolsen *et al.* (1993), podem comprometer até 70% da matéria seca (MS) da silagem, presentes principalmente nas porções superior e paredes dos silos.

O presente estudo teve por objetivo avaliar o uso da natamicina, como aditivo na ensilagem de planta inteira de milho com baixo teor de matéria seca, armazenada em silos horizontais do tipo *bunker* ou em silos experimentais. Avaliaram-se as perdas fermentativas, a composição bromatológica e a estabilidade aeróbia das silagens.

4.1. MATERIAL E MÉTODOS

4.1.1. Descrição do experimento

O experimento foi realizado pelo Centro de Pesquisas em Forragicultura – CPFOR, nas instalações do Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos – LAPOC, pertencentes à Universidade Federal do Paraná, Paraná, Brasil.

A cultura do milho foi implantada no dia 29 de setembro do ano de 2012, na Fazenda Experimental Canguiri da Universidade Federal do Paraná, localizada no município de Pinhais, Paraná (25°25'S, 49°8'W, 930 m altitude), em área de 0,22 ha, com espaçamento entrelinhas de 70 cm. Foi realizada adubação na semeadura com aplicação de 45 kg/ha de N, 80 kg/ha de P e 45 kg/ha de K₂O e na cobertura aos 40 dias de plantio com 105 kg/ha de N e 45 kg/ha de K₂O. O híbrido Pioneer® 32R22H

utilizado para a produção da silagem possuía ciclo superprecoce e característica *staygreen* marcante, tendo sido colhido após 101 dias da emergência, quando os grãos apresentavam deposição de amido em estágio equivalente à metade da “linha do leite” nos grãos do centro da espiga. Foram coletados dados da área cultivada, de precipitação e umidade relativa do ar durante sete dias anteriores e no dia da realização da colheita. O milho foi colhido com ensiladeira acoplada ao trator, regulada para picagem em tamanho teórico médio de 10 mm.

Foram realizados dois ensaios concomitantes, um em mini-silos experimentais e o outro em silos tipo trincheira. Ambos foram confeccionados ao mesmo tempo e usado a forragem proveniente da mesma área.

Para o ensaio em silos experimentais, o milho foi pesado e depositado separadamente sobre uma lona plástica para a montagem de três tratamentos: C - Tratamento controle, sem aditivo; N4 - natamicina na dose de 4 g/ton de massa verde (MV); e N8 - natamicina na dose de 8 g/ton de MV. O aditivo foi dissolvido em 2,5 l de água destilada/t MV e com auxílio de materiais estéreis, as soluções foram aspergidas na forragem picada. Após a homogeneização dos aditivos, a forragem foi novamente pesada para composição de quatro repetições de mesma massa, usada para enchimento dos silos. Foram coletadas amostras de cada tratamento para determinação do teor de MS, composição e pH da forragem.

A forragem foi ensilada em silos experimentais de polietileno (290 mm de diâmetro e 360 mm de altura) com capacidade para 20 litros. No fundo dos silos foram sobrepostos uma placa vazada de PVC, uma tela de nylon e um pano de algodão para fazer a coleta de efluentes. A tampa dos silos era provida de uma válvula tipo Bunsen para a vazão dos gases durante o processo fermentativo da silagem. Em cada silo foi colocado 12,5 kg de forragem, garantindo uma massa específica de 600 kg de MV/m³. A compactação foi realizada com auxílio dos pés protegidos por botas descartáveis. Os silos foram fechados, vedados com fita adesiva, pesados e armazenados em temperatura ambiente em galpão coberto.

O segundo ensaio foi realizado em silos de superfície tipo trincheira, com dimensões de 0,65 m na base superior, 0,5 m na base inferior, 0,5 m de altura e 12,5 m de comprimento, revestidos internamente por lona plástica. Foi confeccionado um silo para cada tratamento (C, N4 e N8), enchidos simultaneamente. A forragem picada era pesada em baldes de 100 l e depositada nos silos em camadas de cinco centímetros. Os tratamentos eram aspergidos com

auxílio de pulverizador na proporção de 2,5 l de solução para cada tonelada de MV. O material era homogeneizado utilizando material estéril e compactado por pisoteio humano, o que proporcionou massa específica de 850 kg MV/m³. Foram coletadas amostras da forragem de cada tratamento no momento da ensilagem para determinar o teor de MS, composição química e pH. Para determinação das perdas fermentativas, em cada silo foram depositados quatro sacos traçadores de nylon, na altura média do silo e em toda a sua extensão, contendo 1 kg de forragem (Jobim *et al.*, 2007). Os silos foram cobertos com lona plástica dupla-face e vedados com terra em suas laterais para evitar a entrada de oxigênio.

A composição química da forragem de milho utilizada nos dois ensaios, apresentou valores médios (base seca) de: 8% de proteína bruta (PB), 49,5% de fibra em detergente neutro (FDN), 23,1% de hemicelulose (HEM), 26,4% de fibra em detergente ácido (FDA) e 3,0% de resíduo mineral (RM). A forragem também apresentou pH de 5,43 e 22,5% de MS no momento da ensilagem.

Em ambos os ensaios os silos foram abertos após 170 dias de fermentação. Os silos experimentais foram pesados individualmente para a determinação gravimétrica de perdas de MS, estimativa de perdas de gases e efluentes, segundo a metodologia descrita por Jobim *et al.* (2007). Após a colheita de amostras, a forragem de cada silo foi homogeneizada e retirada uma amostra de 5 kg de cada repetição para avaliação da estabilidade aeróbia (Kung Jr. *et al.*, 2000). As amostras foram alocadas em um silo experimental aberto, sem compactação, sendo inserido um termômetro no centro da massa. A aferição da temperatura foi feita durante cinco dias em intervalos de 4 horas. As amostras foram mantidas em sala fechada sem controle da temperatura ambiente (15,3±0,84°C). A estabilidade aeróbia foi definida como o tempo em horas para a elevação da temperatura da massa em 2 °C em relação ao ambiente. A variável temperatura acumulada foi determinada pela soma de todas as aferições de temperatura durante a avaliação da estabilidade aeróbia, sendo determinada também a temperatura máxima da massa durante o período de exposição aeróbia. Após cinco dias os baldes com a silagem foram pesados novamente para determinação de perdas de MS em aerobiose (Jobim *et al.*, 2007).

Os silos trincheira foram diariamente avaliados num período de 63 dias após a abertura. Todas as manhãs (8:00 h) a temperatura foi avaliada em três pontos do painel do silo, bem como a temperatura ambiente. Termômetros de bulbo foram

inseridos a 10 cm de profundidade em três alturas no centro da face exposta do silo (10, 25 e 40 cm).

A taxa média de avanço diária dos silos foi de 20 cm, dividida em duas retiradas diárias de silagem. Semanalmente foram coletadas amostras para determinação de pH, MS e contagem de leveduras.

4.1.2. Análises de composição química

As análises de composição química de ambos os ensaios foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da UFPR. O teor de MS foi determinado em estufa de circulação forçada a 55°C por 72 horas. As amostras secas foram moídas em moinho do tipo Willey com peneira de 1 mm de diâmetro. O teor de PB foi determinado pelo método de Dumas (Wiles *et al.*, 1998). Os teores FDN e FDA foram avaliados de acordo com a metodologia de Van Soest *et al.* (1991), adaptada para ANKOM Fiber Analyzer (Holden, 1999). A HEM foi determinada pela diferença dos teores de FDN e FDA. A MS a 105°C e o RM foi processado segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

O pH foi determinado por meio de potenciômetro, pelo método proposto por Kung Jr. *et al.* (1984), usando 25 g de amostra e 225 mL de água deionizada.

Para contagem de leveduras, as amostras foram embaladas a vácuo e encaminhadas imediatamente, sob-refrigeração, para o Laboratório de Microbiologia Veterinária da UFPR. O preparo das amostras consistiu em diluição prévia de 25g de silagem em 225 mL de solução salina estéril (8,5 g de NaCl por litro de água destilada), obtendo uma diluição de 1/10. Após a agitação durante 10 minutos, era realizada a filtração da solução em papel filtro e 1 mL do caldo obtido era retirado para as diluições em série, em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina a 8,5%, as diluições variaram entre 10^{-1} e 10^{-7} conforme a amostragem semanal.

O plaqueamento era realizado em triplicata pelo método *pour plate* no meio de cultura de ágar Sabouraud (Himedia) com adição de 1 mL de ácido tartárico 10% para 100 mL de ágar, atingindo o pH ideal de 4,5. As placas eram incubadas em estufa BOD (26 °C por 144 horas). A contagem das leveduras foi expressa em

unidades formadoras de colônias por grama de silagem (UFC/g), considerando o valor médio da contagem nas três placas.

4.1.3. Análise estatística

Os dados foram analisados pelo programa Statistix 9.0. Foi avaliada a homogeneidade pelo teste de Bartlett e a normalidade pelo teste Shapiro Wilk. Ambos os ensaios foram realizados em delineamento experimental inteiramente casualizado. No ensaio em silos experimentais foram avaliados três tratamentos e quatro repetições, totalizando 12 unidades experimentais (silos). No ensaio em silos trincheira os sacos traçadores foram considerados unidades experimentais, com três tratamentos e quatro repetições. As variáveis homogêneas e com distribuição normal foram submetidas à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância. Os dados das variáveis coletadas semanalmente dos silos trincheira foram analisados por estatística descritiva, sendo os valores de contagem de leveduras transformados em logaritmo na base dez (\log_{10}) por grama de MV de silagem. As variáveis de composição química das silagens dos silos experimentais foram analisadas por covariância, utilizando os dados da forragem fresca como covariável. A comparação de perdas fermentativas de MS entre os dois ensaios foi analisada pelo teste de Mann Whitney com dois ensaios e doze repetições.

4.2. RESULTADOS

A forragem utilizada no experimento apresentava senescência das brácteas das espigas, bem como das folhas da região inferior da planta. O grão de milho possuía a linha do leite preenchida em metade de sua estrutura. Porém, o teor de MS da planta inteira (22,5%) mostrou-se bastante abaixo do ideal, provavelmente à forte característica staygreen do híbrido utilizado. Além do clima úmido durante o período de pré-colheita (sete dias), o índice pluviométrico no período foi de um total

de 18mm e média de 88% de umidade relativa do ar no mesmo período (fonte: Simepar).

Os dados de composição química das silagens dos silos experimentais estão apresentados na Tabela 5. O teor de MS na silagem de milho se mostrou diferente entre os tratamentos, sendo o N8 com maior teor de MS, diferindo entre o C e o N4. O resíduo mineral das silagens diferiu entre os tratamentos ($P<0,01$), onde a maior dosagem de natamicina resultou em maior teor de RM.

Tabela 5. Composição química das silagens de milho dos silos experimentais.

Variáveis ²	Tratamentos ¹			EPM ³	P
	C	N4	N8		
MS, %	21,1 ^a	20,6 ^a	22,7 ^b	0,1575	0,0001
PB, % da MS	8,7	9,0	8,4	0,1842	0,1774
FDN, % da MS	49,2	50,0	49,6	1,5367	0,9292
HEM, % da MS	21,5	22,5	22,1	0,9468	0,7814
FDA, % da MS	27,7	27,6	27,5	0,6839	0,9835
RM, % da MS	4,1 ^b	4,5 ^c	3,9 ^a	0,0655	0,0004
pH	3,58	3,67	3,68	0,0283	0,0683

¹C - controle; N4 - Natamicina 4 g/ton de MV; N8 - Natamicina 8 g/ton de MV.

²MS - Matéria Seca; PB - Proteína Bruta; FDN - Fibra em Detergente Neutro; HEM - Hemicelulose; FDA - Fibra em Detergente Ácido; RM - Resíduo Mineral;

³EPM - Erro Padrão da Média.

Médias com letras diferentes nas linhas diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($P<0,05$).

Não foi verificado diferença significativa no pH da silagem de milho, com média de 3,64 entre os tratamentos. As demais variáveis da composição química das silagens como PB, FDN, FDA e HEM não apresentaram diferenças entre tratamentos. O teor de HEM das silagens apresentou uma discreta redução em relação à forragem fresca (23,1%). No entanto, a PB da silagem foi maior em relação a forragem (8,0%).

Os dados de perdas fermentativas das silagens produzidas nos silos experimentais estão apresentados na Tabela 6.

Foram observadas diferenças entre os tratamentos ($P<0,001$) para perda de matéria seca (PMS) e perdas por produção de gases durante a fermentação. A silagem com maior dosagem de natamicina obteve menor porcentagem de perdas em relação aos outros tratamentos. A produção de efluentes, calculada somente para os silos experimentais, demonstrou não haver diferença significativa entre os tratamentos avaliados, com valor médio de 27,8 kg de efluente por tonelada de MV.

Tabela 6. Perdas fermentativas e estabilidade aeróbia da silagem de milho dos silos experimentais.

Variáveis ²	Tratamentos ¹				P
	C	N4	N8	EPM ³	
PMS, %	10,8 ^b	11,4 ^b	4,2 ^a	0,6486	0,0001
Gases, % da MS	8,3 ^b	8,8 ^b	1,3 ^a	0,6639	0,0001
Efluente, kg/t MV	26,8	27,6	29,1	0,6176	0,0744
PMS Estabilidade, %	0,6 ^{ab}	0,2 ^a	3,1 ^b	0,7005	0,0312
MS Pós Estabilidade, %	21,5 ^b	21,1 ^b	22,4 ^a	0,1660	0,0015

¹C - controle; N4 - Natamicina 4 g/ton de MV; N8 - Natamicina 8 g/ton de MV.

²PMS - Perda de Matéria Seca; MS – teor de matéria seca

³EPM, Erro Padrão da Média.

Médias com letras diferentes nas linhas diferem estatisticamente pelo teste Tukey (P<0,05).

A PMS durante a estabilidade aeróbia do tratamento N8 foi superior ao controle. O teor de MS após a estabilidade foi maior no do tratamento N8 (22,4%) em relação aos outros tratamentos.

Durante o período de cinco dias de avaliação, nenhuma das silagens do estudo apresentou quebra da estabilidade aeróbia, sendo a temperatura média da silagem de 15,8±0,37 °C.

A composição química das silagens de milho dos silos de superfície tipo *bunker* está apresentada na Tabela 7.

Tabela 7. Médias e desvios padrão da composição química das silagens de milho dos silos trincheira, avaliadas semanalmente.

Variáveis ²	Tratamentos ¹			EPM	Média
	C	N4	N8		
MS, %	21,9±1,19	22,2±1,04	22,3±0,76	0,3212	22,1
PB, % da MS	7,8±0,32	7,9±0,34	7,9±0,30	0,1012	7,9
FDN, % da MS	48,2±2,40	48,2±1,45	49,0±1,58	0,5893	48,4
HEM, % da MS	18,6±2,18	19,4±1,80	19,9±1,41	0,5778	19,3
FDA, % da MS	29,5±2,30	28,8±1,64	29,1±1,85	0,6164	29,1
RM, % da MS	3,2±0,31	3,2±0,21	3,2±0,15	0,0744	3,2
pH	3,50±0,07	3,51±0,10	3,52±0,09	0,0289	3,51

¹C - controle; N4 - Natamicina 4 g/ton de MV; N8 - Natamicina 8 g/ton de MV.

²MS - Matéria Seca; PB - Proteína Bruta; FDN - Fibra em Detergente Neutro; HEM - Hemicelulose; FDA - Fibra em Detergente Ácido; RM - Resíduo Mineral;

³EPM - Erro Padrão da Média.

O teor de MS das silagens dos silos trincheira apresentou média de 22,1% entre os tratamentos. Os valores de pH das silagens apresentaram-se bastante baixos nos três tratamentos estudados, sendo mais baixos em relação aos valores das silagens dos silos experimentais. As variáveis de composição química das

silagens dos silos trincheira demonstraram valores menores em relação à silagem de milho dos silos experimentais.

As variáveis perda de MS, contagem de leveduras e temperaturas média e máxima verificadas nos silos *bunker* estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8. Temperaturas do painel dos silos, perda de MS e contagem de leveduras nas silagens dos silos horizontais tipo *bunker*.

Variáveis ²	Tratamentos ¹			Média	EPM ³
	C	N4	N8		
Temperatura Média, °C	16,9	16,2	16,4	16,5	0,7215
Temperatura Máxima, °C	19,0	18,0	18,3	18,4	0,8154
PMS, %MS	8,8	7,8	9,2	8,6	1,0756
Leveduras (Log UFC/g MV)	7,1	7,3	7,0	7,1	0,5703

¹C - controle; N4 - Natamicina 4 g/ton de MV; N8 - Natamicina 8 g/ton de MV.

²PMS - Perda de Matéria Seca; UFC, Unidade Formadora de Colônia.

³EPM - Erro Padrão da Média.

A temperatura média do ambiente observada durante o período experimental foi de $10,8 \pm 4,4^{\circ}\text{C}$, abaixo da temperatura ambiente média observada na avaliação de estabilidade aeróbia das silagens dos silos experimentais.

A PMS dos silos trincheira obtidas pelos sacos traçadores não apresentaram diferenças entre os tratamentos.

Comparando-se os dois diferentes tipos de silos os valores médios de PMS foram semelhantes, sendo 8,3% para os silos experimentais e 8,6% para os silos de superfície ($P > 0,05$).

A natamicina não proporcionou redução na população de leveduras dos silos trincheira, os valores das silagens aditivadas foram semelhantes ao tratamento controle. A Figura 4 mostra, em valores médios, a curva de multiplicação semanal da população de leveduras na silagem de milho dos silos trincheira.

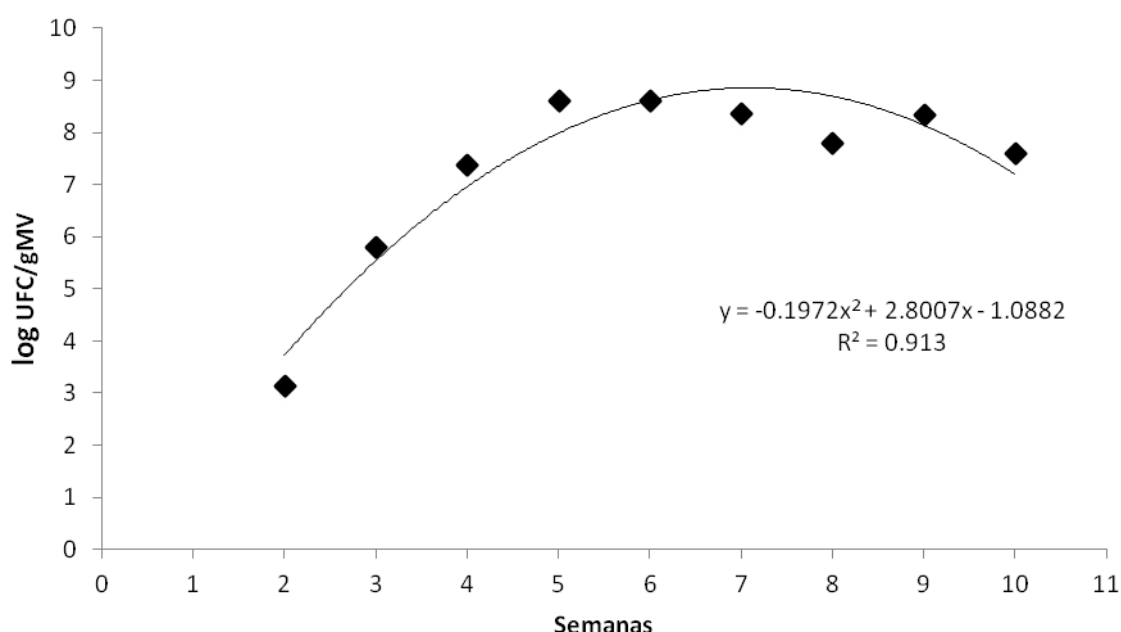


Figura 4. Contagem média de leveduras na silagem de milho em silos trincheira.

A curva de multiplicação das leveduras apresentou crescimento tipicamente quadrático, atingindo máximo crescimento entre a quinta e sexta semana após a abertura dos silos trincheira com tendência de diminuição na população nas semanas subsequentes.

4.3. DISCUSSÃO

O híbrido de milho utilizado na confecção das silagens do presente experimento apresenta características *staygreen* marcantes, pois mesmo verificando-se senescência das brácteas da espiga e preenchimento de metade da linha do leite nos grãos, no momento da colheita, a parte vegetativa das plantas apresentava-se com alta umidade. A recomendação de corte da forragem de milho com metade da linha do leite para híbridos com *staygreen* mais acentuado, pode levar a baixos teores de MS nas silagens (Carvalho, 2013). Sendo recomendada a realização do corte da forragem com 2/3 da linha do leite preenchida para esses híbridos de milho. O baixo teor de MS da forragem utilizada (22,5%), está fora dos padrões normais para colheita e confecção de silagens de boa qualidade (Nussio *et al.*, 2001), que deveria estar entre 30 e 35%. Os dias que antecederam a colheita

foram chuvosos e frios, o que dificultou a perda de água pela planta. Híbridos de milho com característica *staygreen* apresentam maturidade desigual para suas estruturas. Ao mesmo tempo em que há o enchimento dos grãos da espiga, a haste e folhas da planta ainda possuem alta umidade (Arriola, 2006; Bekavak *et al.*, 2007), devido ao efeito retardado de senescência (Thomas e Howarth, 2000). Nesse caso, pode acarretar problemas para a produção de silagens (Wilkinson e Hill, 2003). Havilah e Kaiser (1994) reportam que o teor de MS de híbridos *staygreen* começa a aumentar somente após o preenchimento de metade do grão, momento este, segundo Holland *et al.* (1990), de ótimo estado de maturação do grão para o corte e confecção de silagens de milho de boa qualidade.

Contudo, apesar do baixo teor de matéria seca da forragem (22,5%), a produção de efluentes foi pequena (27,8kg/t MV), e sem efeito dos tratamentos. Esse efeito contraria a afirmação de Weinberg e Ashbell (2003), de que forragens com teor de MS entre 20 e 25% no momento da ensilagem podem levar a produções de efluente de até 200 litros por tonelada.

As perdas fermentativas foram até 75% maiores em relação a trabalhos reportados na literatura (Driehuis *et al.*, 1999; Driehuis *et al.*, 2001; Filya e Sucu, 2010), possivelmente devido ao menor teor de MS da forragem utilizada. Junges *et al.* (2013) utilizaram silos experimentais para avaliar aditivos na forragem de milho colhida com 30,7% de MS e observaram perdas médias de MS de 7,6% após 120 dias de fermentação. Além das perdas fermentativas serem maiores nas forragens com teor de MS abaixo de 30% a digestibilidade da MS pode ser reduzida (Filya, 2004). No entanto, esse mesmo autor afirma que acima de 2/3 de preenchimento da linha do leite do grão, a degradabilidade da FDN pode ser reduzida, além das concentrações de PB e cinzas.

Os dois tipos de silos do presente experimento acarretaram valores médios semelhantes nas PMS das silagens (8,8 e 8,6% da MS, para os ensaios em silos experimentais e trincheira, respectivamente). Bolsen *et al.* (1993) avaliaram perdas de MS em silos horizontais e tambores, obtendo resultados de perdas semelhantes (15%) após 180 dias de fermentação da silagem de milho.

Entretanto, o tratamento com a maior dose de natamicina (N8) reduziu significativamente a perda por gases e perda total de MS nos silos experimentais (Tabela 6) e não apresentou esse efeito no silo trincheira (Tabela 8). Esse efeito pode ser resultante da menor condição de desafio imposta ao aditivo nos silos

experimentais, que apresentam vedação perfeita, enquanto falhas na vedação e exposição ao oxigênio após a abertura podem comprometer o resultado em silos de grande escala. Segundo Bernardes *et al.* (2011), a PMS em silos convencionais pode ocorrer por deficiências na vedação, permeabilidade ao oxigênio da lona do silo e maior quantidade de oxigênio presente na forragem. McGechan (1990) confirmou essa hipótese e verificou que os silos em escala de fazenda apresentam maiores perdas em comparação a silos experimentais. Driehuis *et al.* (1999) afirmam que, em silos experimentais, 5% de volume do silo corresponde a O₂ gasoso imediatamente após a vedação, e esse volume passa para 0,1 a 0,2% após 24 horas, o que possivelmente não ocorre em silos convencionais.

Os dados de composição química e perdas fermentativas, corroboram com os achados por Rodrigues *et al.* (2002), que não observaram diferenças da composição química e perdas das silagens de milho ensiladas em silos experimentais ou convencionais do tipo trincheira. Por outro lado, McGechan (1990) afirma que em forragens com baixo teor de MS, as perdas fermentativas, produção de gases e respiração celular durante o processo, tendem a ser maiores, sendo essas aumentadas quando estocadas em silos convencionais.

Os valores de pH das silagens, embora bastante baixos, foram semelhantes aos resultados encontrados por Filya (2004) e Filya *et al.* (2006), que avaliaram silagens com baixo teor de MS com a utilização ou não de aditivos. Segundo os autores, por apresentarem altas quantidades de carboidratos solúveis, as forragens com baixo teor de MS aceleram o processo de fermentação e provocam rápida queda do pH em relação à silagem com alto teor de MS. Ainda, Driehuis *et al.* (2001) afirmam que quando o teor de MS da forragem é menor, as bactérias ácido lácticas epifíticas predominam na fermentação, reduzindo por sua vez o pH da silagem. Assim, pode-se afirmar que em silagens de milho ricas em carboidratos solúveis e com alta umidade, o processo fermentativo é beneficiado em detrimento da respiração na fase inicial após o fechamento dos silos.

As concentrações de HEM da forragem apresentaram redução nos teores após a ensilagem, possivelmente pela hidrólise ácida parcial desse componente (Morrison, 1979; Filya, 2004; Filya e Sucu, 2010). Esse efeito, associado ao consumo dos carboidratos solúveis durante a fermentação, é um fator importante para explicar o aumento na concentração de proteínas e matéria mineral nas silagens.

O maior teor de MS do tratamento N8 em relação aos demais, nos silos experimentais, pode estar relacionado diretamente à menor perda de matéria seca e gases durante a fermentação, demonstrando eficiência da natamicina na dosagem de 8g/ton de MV em controlar as perdas fermentativas da silagem. Pinto *et al.* (2013), utilizaram a mesma dosagem de natamicina em combinação com aditivo microbiano e encontraram resultados positivos na redução de PMS e produção de gases em comparação à silagem sem aditivo, devido a possível redução de microrganismos espoliadores como as leveduras, responsáveis pela degradação da MS da silagem. Contudo, Schmidt *et al.* (2012) não verificaram redução nas perdas fermentativas em silagem de milho, utilizando natamicina como aditivo.

As silagens confeccionadas nos silos experimentais não apresentaram aquecimento e quebra da estabilidade aeróbia durante os cinco dias de avaliação. Dessa forma, nenhum efeito de tratamento foi identificado. Woolford *et al.* (1980) observaram aumento no tempo de estabilidade aeróbia em silagens aditivadas com pimaricina na dosagem de 0,27kg/t de MV. Da mesma forma, D'Urso *et al.* (1990), em estudo com silagem de tritcale utilizando natamicina na dose de 0,2kg/t de MV, verificaram aumento significativo na estabilidade aeróbia em relação ao tratamento controle. No entanto, a dosagem de natamicina utilizada em ambos os estudos não apresenta relevância prática devido ao custo da dose avaliada. No presente estudo, a intensa fermentação das silagens demonstrada pelo valor baixo de pH, associada à baixa temperatura ambiente no período de avaliação, não permitiu identificar efeitos da natamicina sobre a estabilidade. Contudo, Novinski *et al.* (2012) verificaram aumento de 52,8 horas na estabilidade aeróbia de silagens de milho aditivadas com 8 g/t de natamicina (146,4 horas) em relação ao controle (93,6 horas).

O baixo teor de MS e o alto teor de carboidratos solúveis na forragem do presente experimento podem ter maximizado a fermentação das bactérias ácido lácticas pela alta presença de substrato. Boudra e Morgavi (2008) avaliaram silagens de milho com diferentes teores de MS, observaram maior tempo de estabilidade aeróbia em silagens com baixo teor de MS. As silagens dos silos de superfície tipo trincheira também não demonstraram aumento de temperatura no painel dos silos, onde a temperatura máxima atingida foi de 18,4°C (Tabela 8).

A temperatura ambiente verificada no experimento pode ter limitado o crescimento microbiano e aquecimento das silagens após a abertura dos silos, pelo

fato de não ultrapassar $15,3 \pm 0,8$ °C na avaliação dos silos experimentais e $10,8 \pm 4,4$ °C nos silos trincheira. Segundo Ashbell *et al.* (2002) a temperatura ambiente pode interferir diretamente na estabilidade da silagem, pois é considerado um regulador do crescimento de leveduras após a exposição em aerobiose, sendo com temperatura ambiente entre 20 e 30 °C, maior é o crescimento de leveduras da silagem, tornando-a mais instável.

O tratamento com maior dosagem de natamicina apresentou maior PMS durante a estabilidade, embora os valores não terem ultrapassado o limite de 5% de perdas proposto por McGechan (1990). Esse efeito possivelmente está relacionado às menores perdas que esse tratamento sofreu durante a fermentação, com maior teor residual de carboidratos, susceptíveis à espoliação no pós-abertura.

As leveduras, consideradas principais microrganismos espoliadores da silagem em aerobiose, metabolizam o ácido láctico e elevam o pH da massa, iniciando o processo de degradação do material (McDonald *et al.*, 1990). Segundo Bernardes (2006), esses microrganismos geram aumento da temperatura, sendo os principais microrganismos responsáveis pela deterioração aeróbia da silagem. No presente experimento, os três tratamentos avaliados nos silos *bunker* apresentaram efeito semelhante no crescimento semanal das leveduras. O baixo pH das silagens não inibiu o crescimento das leveduras ao longo das semanas de avaliação, possivelmente devido à infiltração de oxigênio no painel do silo e sob a lona ao longo do período de uso dos silos. Bravo-Martins *et al.* (2006) afirmam que o baixo pH, muitas vezes não consegue impedir o crescimento de leveduras, devido a habilidade desses microrganismos em tolerar variações de pH entre 3 e 8.

O aumento na população de leveduras nas silagens foi gradativo durante as semanas avaliadas. A exposição aeróbia da silagem, em combinação com a presença de substratos como carboidratos solúveis e ácido láctico promove a cada dia de exposição aeróbia da silagem crescimento exponencial de leveduras (Dolci *et al.*, 2011). McGechan (1990) afirma que silos horizontais podem apresentar grandes perdas em suas porções finais devido à permeabilidade de oxigênio na massa. A medida que aumenta o tempo de exposição aeróbia da silagem, os níveis de ácido láctico se reduzem gradativamente, estabilizando o crescimento das leveduras e aumentando o pH, tornando um ambiente favorável ao crescimento de outros microrganismos, como bactérias e fungos responsáveis por grandes taxas de degradação da silagem (Dolci *et al.*, 2011).

A natamicina não foi eficiente em controlar o crescimento de leveduras nos silos *bunker*, embora tenha reduzido perdas de MS nos silos experimentais. Dentre as várias hipóteses que podem explicar esse efeito, o maior desafio imposto às silagens nesse tipo de silo, com menor eficiência de vedação e maior tempo de exposição ao oxigênio parece ser a mais oportuna. A ausência de efeito do aditivo nas perdas avaliadas com sacos traçadores corrobora essa afirmação.

O rápido abaixamento do pH da silagem no presente ensaio pode ter reduzido a eficiência de ação da natamicina. Segundo Brik (1981), a natamicina apresenta pKa de 4,6 o que pode comprometer a eficiência da natamicina em silagens com baixo pH. De acordo com Raab (1972), o pH ideal para estabilidade da natamicina é entre 4,5 e 9,0 ao longo de um período máximo de 72 horas. Segundo o autor, em pH extremo (perto de 2), a molécula da natamicina é substancialmente perdida. Woolford *et al.* (1980) afirmam que a quantidade de pimaricina recuperada geralmente decresce durante o processo fermentativo da silagem, sendo observadas baixas dosagens de recuperação.

4.4. CONCLUSÃO

A natamicina é efetiva em reduzir perdas fermentativas em silagens de milho em silos experimentais. Os silos experimentais são modelos adequados para mensurar perdas fermentativas em silagens. Contudo, condições de vedação e pós-abertura em silos de grande escala podem comprometer a eficiência de aditivos estimulantes ou inibidores da fermentação.

A composição química das silagens de milho não é afetada pela adição da natamicina. Em silos trincheira, a população de leveduras da silagem após a exposição aeróbia não é reduzida pela adição da natamicina na ensilagem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARRIOLA K. G. (2006) Effect of stay-green ranking, maturity and moisture concentration of corn hybrids on silage quality and the health and productivity of lactating dairy cows. In: Florida: *University of Florida, Thesis (Master in Science)*, 2006, 114p.
- ASHBELL, G., WEINBERG, Z. G., HEN, Y. and FILYA, I. (2002) The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **28**, 261–263.
- BERNARDES T. F., NUSSIO L. G. and AMARAL R. C. (2011) Top spoilage losses in maize silage sealed with plastic films with different permeabilities to oxygen. *Grass and Forage Science*, **67**, 34-42.
- BERNARDES T. F. (2006) Controle da deterioração aeróbia de silagens (Aerobic deterioration control of silages). In: Jaboticabal: *Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Tese (Doutorado em Zootecnia)*, 2006, 103p.
- BOLSEN K. K., DICKERSON J. T., BRENT B. E., SONON Jr. R. N., DALKE B. S., LIN C. and BOYER Jr. J. E. (1993) Rate and extent of top spoilage losses in horizontal silos. *Journal of Dairy Science*, **76**, 2940-2962.
- BOUDRA H. and MORGAVI D. P. (2008) Reduction in fusarium toxin levels in corn silage with low dry matter and storage time. *Journal Agriculture Food Chemistry*, **56**, 4523-4528.
- BRAVO-MARTINS C. E. C., CARNEIRO H., CASTRO-GÓMEZ R.J.H., FIGUEIREDO H. C. P. and SCHWAN R. F. (2006) Chemical and microbiological evaluation of ensiled sugar cane with different additives. *Brazilian Journal of Microbiology*, **37**, 499-504.
- BRIK H. (1981) Natamycin. In: FLORY K. (ed) *Analytical profiles of drug substances*. Academic Press, New York, 10, pp 513-561.
- BRUSTOLIN, J. C. (2009) Uso da natamicina no controle do desenvolvimento de fungos em salame tipo italiano (Use of natamycin in controlling mold growth in Italian salami) In: Santa Maria: *Universidade Federal de Santa Maria, Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)*, 2009, 53p.
- CARVALHO I. Q. (2013) Ponto de corte do milho para silagem. Fundação ABC. Disponível em: http://www.fundacaoabc.org.br/forragicultura/banco_forragens/Ponto_Corte_Silagem_Milho.pdf. Acessado em 23 de janeiro de 2014.

DOLCI P., TABACCO E., COCOLIN L. and BORREANI G. (2011) Microbial dynamics during aerobic exposure of corn silage stored under oxygen barrier or polyethylene films. *Applied and Environmental*, **77**, 7499-7507.

DRIEHUIS F., OUDE ELFERINK S. J. W. H. and VAN WIKESLAAR P. G. (2001) Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic-acid bacteria. *Grass and Forage Science*, **56**, 330–343.

DRIEHUIS, F., OUDE ELFERINK, S. J. W. H. AND SPOELSTRA, S. F. (1999) Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *Journal of Applied Microbiology*, **87**, 583–594.

D'URSO G., AVONDO M., LICITRA G. and SINATRA M. C. (1990) Effetti dell'aggiunta di Na-bentonite, acido formico e pimaricina sulle caratteristiche di fermentazione e sul deterioramento aerobico degli insilati di triticale (Effect of the addition of Na-Bentonite, formic acid and pimaricin on the fermentations characteristics and on the aerobic deterioration of triticale silage). *Zootecnica e Nutrizione Animale*, **16**, 99-106.

European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EAEMP) (1998) EMEA/MRL/342/98-Final February. *Committee for Veterinary Medicinal Products – Natamycin*.

FILYA I. (2003a) The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic-acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. *Journal of Applied Microbiology*, **95**, 1080–1086.

FILYA I. (2003b) The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal of Dairy Science*, **86**, 3575-3581.

FILYA I. (2004) Nutritive value and aerobic stability of whole crop maize silage harvested at four stages of maturity. *Animal Feed Science and Technology*, **116**, 141-150.

FILYA I. and SUCU E. (2010) The effects of lactic acid bacteria on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. *Grass and Forage Science*, **65**, 446–455.

FILYA I., SUCU E. and KARABULUT A. (2006) The effects of *Propionibacterium acidipropionici* and *Lactobacillus plantarum*, applied at ensiling, on the fermentation and aerobic stability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **33**, 353-358.

HAVILAH E. J. and KAISER A. G. (1994) The “stay-green” characteristic and maize silage production. In: Birch C. et al. *Proceedings of the Second Australian Maize Conference, Gatton, Queensland, 1994*, pp 209–212.

HOLDEN L. A. (1999) Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *Journal of Dairy Science*, **82**, 1791-1794.

HOLLAND C., KEZAR W. and QUADE Z. (1990) Pioneer Forage Manual – A Nutritional Guide. *Pioneer Hi-Bred International* pp 19–21.

HONDRODIMOU O., KOURKOUTAS Y. and PANAGOU E. Z. (2011) Efficacy of natamycin to control fungal growth in natural black olive fermentation. *Food Microbiology*, **28**, 621-627.

HONDRODIMOU O., KOURKOUTAS Y. and PANAGOU E. Z. (2011) Efficacy of natamycin to control fungal growth in natural black olive fermentation. *Food Microbiology*, **28**, 621-627.

JOBIM C. C. and GONÇALVES G. D. (2003) Microbiologia de Forragens Conservadas (Microbiology of Conserves Forages In: REIS R. A., BERNARDES T.F., SIQUEIRA G.R. and MOREIRA A. L. *Proceedings Forages in Ruminant Production: Alimentary Value Forages. Jaboticabal, SP, Brazil*, 2003, pp 1-26.

JOBIM C. C., NUSSIO L. G., REIS R. A. and SCHMIDT P. (2007) Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada (Methodological advances in evaluation of preserved forage quality). *Brazilian Journal of Animal Science*, **36**, 101-120.

KUNG Jr. L. (2001). Silage fermentation and additives. In: JACQUES K. A. and LYONS T.P. (eds) *Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium*. Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp145-159.

KUNG Jr. L., ROBINSON Jr., RANJIT N. K., CHEN J. H., GOLT C. M. and PESEK J. D. (2000) Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. *Journal of Dairy Science*, **83**, 1479-1486.

KUNG Jr. L., GRIEVE D.B., THOMAS J.W. and HUBER J. T. (1984) Added ammonia or microbial inoculate for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. *Journal of Dairy Science*, **67**, 299-306.

McDONALD P., HENDERSON A. R. and HERON S. J. E. (1991) *Biochemistry of silage*, 2nd edn. Marlow, UK: Chalcombe Publications.

McGECHAN M. B. (1990) A review of losses arising during conservation of Grass forage: Part 2, storage losses. *Journal of Agricultural Engineering Research*, **45**, 1-30.

MEDINA A., JIMENEZ M., MATEO R. and MAGAN N. (2007) Efficacy of natamycin for control of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains under different environmental conditions. *Journal of Applied Microbiology*, **103**, 2234–2239.

MORRISON I. M. (1979) Changes in the cell wall components of laboratory silages and the effects of various additives on these changes. *Journal Agriculture Science*, **93**, 581–586.

NOVINSKI C. O., BUENO A. V. I., PINTO S., SOUZA C. M., ALMEIDA R., SCHMIDT P. (2013) Chemical and microbial additive on aerobic stability of sugarcane silages. In: DANIEL J. L. P., SANTOS M. C. and NUSSIO L. G. (eds) *Proceedings of III International Symposium on Forage Quality and Conservation*, Campinas, SP, Brazil, 2013.

NOVINSKI C. O., SCHMIDT P., WARPECHOWSKI M. B., SOUZA C. M., PINTO S., (2012) Aerobic stability of corn silage added with natamycin. In: *Proceedings of the 49th Annual Meeting of the Society of Animal Science*, Brasília, DF, Brazil, 2012, p. 4P6F.

NUSSIO L. G., CAMPOS F. P. and DIAS F. N. (2001) Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. (Importance of quality vegetative parts in feed value of corn silage) In: JOBIM C. C., CECATO U., DAMASCENO J. C. and SANTOS G. T. *Anais do Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas*. Maringá, PR, Brazil, pp 127-145.

PINTO S., NOVINSKI C. O., SOUZA C. M., WARTH J. F. G. and SCHMIDT P. (2013) Fermentative losses of maize silage added with natamycin and lactobacillus buchneri. In: DANIEL J. L. P., SANTOS M. C. and NUSSIO L. G. (eds) *Proceedings of III International Symposium on Forage Quality and Conservation*, Campinas, SP, Brazil, 2013, p 73.

RAAB W. (1972) Natamycin (Pimaricin). Its Properties and Possibilities in Medicine. Georg Thieme Publishers, Stuttgart, Germany, p134.

RANJIT N. K., TAYLOR C. C. and KUNG JR. L. (2002) Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. *Grass and Forage Science*, **57**, 73–81.

RODRIGUES P. H. M., PEDROSO S. B. G., MELOTTI L., ANDRADE S. J. T., LIMA F. R. (2002) Comparative studies on chemical composition and fermentation characteristics of corn silage. *Acta Scientiarum*, **24**, 1127-1132.

SCHMIDT P., BUENO A. V. I., NOVINSKI S. P., SOUZA C. M. and ROSSI JR. P. (2013) Greenhouse gas emissions from fermentation of sugarcane silages treated with natamycin or *Lactobacillus buchneri*. In: *Proceedings of the 5th Greenhouse Gases and Animal Agriculture Conference*. Dublin, Ireland, 2013, p 448.

SCHMIDT P., NOVINSKI C. O., CARNEIRO E. W. and BAYER C. (2012) Greenhouse gas emissions from fermentation of corn silage. In: K. KUOPPALA, M. RINNE and A. VANHATALO (eds) XVI International Silage Conference, Hämeenlinna, Finland, 2012, p428.

SILVA D. J. and QUEIROZ A. C. (2002) *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos* 3rd edn. Viçosa, MG: UFV Publications.

SIMEPAR (PR) Tecnologia e Informações Ambientais (2013) Arquivo de dados meteorológicos. Curitiba, PR.

VAN SOEST P. J., ROBERTSON J. B. and LEWIS B. A. (1991) Methods for dietary fibre, neutral-detergent fibre and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, **74**, 3583–3597.

VAR I., ERGINKAYA Z., GÜVEN M. and KABAK B. (2006) Effects of antifungal agent and packaging material on microflora of Kashar cheese during storage period, *Food Control*, **17**, 132–136.

WEINBERG Z. G. and ASHBELL G. (2003) Engineering aspects of ensiling. *Biochemical Engineering Journal*, **13**, 181-188.

WELSCHER Y. M., HENDRIK H. N., BALAGUE M. M., SOUZA C. M., RIEZMAAN H., KRUIJFF B. and BREUKINK E. (2008) Natamycin blocks fungal growth by binding specifically to ergosterol without permeabilizing the membrane. *The Journal of Biological Chemistry*, **283**, 6393-6401.

WILES, P. G., GRAY I. K. and KISSLING, R. C. (1998) Routine analysis of protein by Kjeldahl and Dumas methods: review and interlaboratory study dairy products. *Journal of AOAC International*, **81**, 620-632.

WILKINSON J. M. and HILL J. (2003) Effect on yield and dry-matter distribution of the stay-green characteristic in cultivars of forage maize grown in England. *Grass and Forage Science*, **58**, 258–264

WOOLFORD M. K., COOK J. E., HALL D. M. and BONIS A. (1980) The use of pimaricina as an additive to improve the aerobic stability of silage. *Journal Science Food Agriculture*, **31**, 558-566.

WOOLFORD, M. K. (1990) The detrimental effects of air on silage. *Journal Applied Bacteriology*, **68**, 101-116.

CAPÍTULO III - DESEMPENHO DE CORDEIROS CONFINADOS ALIMENTADOS COM SILAGENS DE MILHO ADITIVADAS COM NATAMICINA

RESUMO

O presente estudo tem por objetivo verificar os efeitos da adição da natamicina na ensilagem de milho e avaliar o desempenho de cordeiros confinados, utilizando essa silagem como fonte de volumoso. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com três tratamentos e dez blocos. Os tratamentos realizados foram: controle (sem aditivo); N4 (natamicina na dose de 4 g/ton de massa verde); e N8 (natamicina na dose de 8g/ton de massa verde). Foi realizada semanalmente a composição bromatológica e contagem de leveduras nas silagens. As variáveis analisadas no desempenho dos cordeiros foram consumo, ganho de peso, conversão alimentar e características de carcaças como, área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura (EG). O teor de matéria seca das silagens mostrou-se abaixo do ideal, pela característica *staygreen* marcante do híbrido utilizado. As silagens demonstraram baixo pH e não apresentaram efeito ($P>0,05$) do tratamento com natamicina. A adição da natamicina não foi efetiva em reduzir a população de leveduras no painel dos silos. As silagens aditivadas não provocaram qualquer tipo de toxicidade, redução de consumo e efeitos negativos no desempenho dos cordeiros. A natamicina não alterou os padrões de seleção dos animais. A composição corporal dos animais, medida por ultrassonografia não foi afetada pelos tratamentos avaliados. Isso demonstra o potencial de uso da natamicina como aditivo na conservação de silagem de milho e fornecimento a animais.

Palavras chave: Consumo, ganho de peso, pimaricina, seleção de dieta, ultrassom.

PERFORMANCE OF FEEDLOT LAMBS WITH CORN SILAGES ADDITIVATED WITH NATAMYCIN

ABSTRACT

This trial aimed to evaluate natamycin as additive in corn silages on performance of feedlot lambs. A completely randomized blocks with three treatments and ten blocks was used. The treatments were: control (no additive), N4 (natamycin with 4 g ton⁻¹ of fresh forage) and N8 (natamycin with 8g ton⁻¹ of fresh forage). The chemical composition and yeasts count were weekly evaluated. Feed intake, weight gain, feed conversion and of carcass traits (area loin eye (ALE) and fat thickness (FT)) were measured in the animals. The dry matter content of the silages was below the ideal, because the strong staygreen feature in corn hybrid. The silages showed low pH for all treatments. The addition of natamycin was not effective in reducing the yeasts counts in the silos panel. This additive did not cause any toxicity, reduced intake or negative effects on performance lambs. The treatments caused no effect in diet selection by animals. The body composition measured by ultrasonography was not affected by the treatments evaluated. The results demonstrate the potential use of natamycin as silage additive without prejudice the animal performance.

Key Words: Feed intake, diet selection, ultrasonography, pimarinic, weight gain.

5. INTRODUÇÃO

A produção de ovinos no Brasil vem aumentando significativamente nos últimos anos, e segundo Cruz *et al.* (2011), a cadeia de produção de carne ovina desponta com grandes perspectivas tanto para o mercado interno quanto para o mercado externo. A eficiência na produção de carne ovina pode ser conseguida com aumento reprodutivo nas ovelhas e principalmente na velocidade de crescimento dos cordeiros (Macedo *et al.*, 2000). Os cordeiros devem apresentar elevadas taxas de crescimento e atingirem peso de abate ainda jovem.

O confinamento é um dos sistemas empregados para o aumento dos índices de produtividade dos rebanhos. Siqueira *et al.* (1993) recomendam o uso do confinamento para terminação de cordeiros, pelo fato desse sistema reduzir os efeitos de baixo desempenho e alta mortalidade dos animais, resultantes das verminoses. A terminação de cordeiros em confinamento segundo Macedo *et al.* (2000), é economicamente viável pelo fato dos animais atingirem peso para abate precoce em relação ao sistema de terminação em pastagens.

As silagens são as principais fontes de volumosos utilizados no sistema de confinamento. Sendo a silagem de milho considerada de melhor escolha pelo seu alto valor nutritivo. Em estudo com desempenho de cordeiros confinados, Carvalho *et al.* (1999) utilizaram como principal fonte de volumoso a silagem de milho, pela sua qualidade nutritiva para um correto e fácil balanceamento das dietas. Porém, apesar do alto valor nutritivo da silagem de milho, Ribeiro *et al.* (2002) não obtiveram desempenho satisfatório em ovelhas confinadas quando utilizado silagem de milho como principal fonte de volumoso. Segundo os autores, fatores ligados à composição e digestibilidade da forragem utilizada no momento da ensilagem podem ter influído nos resultados. Entretanto, Bueno *et al.* (2004), verificaram melhor desempenho de cordeiros confinados a base de silagem de milho em relação a silagem de girassol. Considerado pelos autores uma fonte volumosa de alta qualidade nutricional para utilização em confinamentos de ovinos.

Recentemente, híbridos de milho com característica *staygreen* vêm sendo utilizados na produção de silagens. Segundo Arriola (2006), o termo *staygreen* é utilizado para plantas de milho que possuem características de período de senescência atrasado, maior resistência a doenças e uma janela de corte mais

extensa quando comparado a híbridos convencionais. O ponto de maturação desses híbridos é um dos problemas encontrados para a produção de silagens, segundo Wilkinson e Hill (2003), uma vez que o grão apresenta maturidade ideal para ensilagem, a parte vegetativa da planta ainda está relativamente imatura. Havilah e Kaiser (1994) reportam que o teor de MS de plantas de milho *staygreen* aumenta somente após o grão apresentar metade da linha do leite preenchida. Segundo Holland *et al.* (1990), esse é o estágio ótimo de maturação do grão para o corte e confecção de silagens de milho de boa qualidade. Assim, o ponto de corte desses híbridos para confecção de silagens deve ser revisto.

O teor de matéria seca (MS) da forragem é um fator relevante a ser considerado para a qualidade da silagem de milho (McGechan, 1990), sendo que esse valor deve variar entre 30 e 35% na planta inteira no momento da ensilagem (Nussio *et al.*, 2001). No entanto, Filya (2004) afirma que silagens com baixo teor de MS apesar de proporcionarem maiores perdas, podem apresentar melhor digestibilidade de seus compostos pelos animais.

Os cuidados no processo de produção de silagens, como confecção, fermentação e após a abertura do silo até o fornecimento aos animais, são de suma importância quando se tem por objetivo obter o máximo valor nutritivo do material ensilado. No entanto, muitas vezes as silagens passam por vários graus de deterioração antes e durante o fornecimento no cocho. O fornecimento de silagem deteriorada pode resultar em redução da ingestão e desempenho do animal (Hoffman e Ocker, 1997), além do risco de produção de micotoxinas, responsáveis por diversas doenças e efeitos tóxicos aos animais.

Segundo Woolford (1990), a deterioração aeróbia da silagem após a abertura do silo é inevitável, podendo resultar em grandes perdas de MS. O aumento do pH da silagem ocorre devido ao declínio de ácidos orgânicos como o láctico, consumido principalmente pelas leveduras (McDonald *et al.*, 1991). As leveduras são os principais microrganismos aeróbios que iniciam o processo de deterioração e perda da qualidade da silagem, capazes de sobreviver em baixo pH, além de, não serem inibidas pelo ácido láctico (Kung Jr *et al.*, 2003), por utilizarem-no como substrato. Essas leveduras convertem carboidratos solúveis em etanol, liberando CO₂ e água. Segundo McDonald *et al.* (1991), isso pode acarretar uma perda de MS de aproximadamente 49% dos substratos presentes na silagem, o que resulta em perda considerável na qualidade do volumoso (Ávila *et al.*, 2009).

Determinadas substâncias antibióticas podem ser utilizadas para controlar o crescimento de leveduras e melhorar a qualidade das silagens (McDonald *et al.*, 1991). Segundo Welscher *et al.* (2008), a natamicina originada de culturas de bactérias *Streptomyces natalensis* é considerada uma bacteriocina antibiótica, com princípio ativo pimáricina. Essa substância possui efeito no ergosterol presente nas paredes de fungos e leveduras, porém não em bactérias (Brik, 1981). Sendo um aditivo interessante para uso no processo fermentativo de silagens.

O uso da natamicina tem aumentado nos últimos anos, como conservante em alimentos para consumo humano, dentre eles, os queijos (Reps *et al.* 2002), azeitonas (Hondrodinou *et al.*, 2011) e bebidas, como vinhos e sucos (Medina *et al.* 2007). Além de sua efetividade no controle de fungos e leveduras nos alimentos, a substância não afeta a característica física e organoléptica do produto (Brustolin, 2009).

A utilização de antibióticos como aditivos em silagens não é muito difundida, devido à possibilidade de causar efeitos nocivos tanto para animais que a consomem, quanto para seres humanos que ingerem produtos de origem animal. Estudos utilizando a natamicina como aditivos na produção de silagens são escassos na literatura. Apenas Woolford *et al.* (1980) testaram os efeitos da pimáricina no tratamento de silagens e verificaram em alguns casos a diminuição no número de fungos e leveduras em exposição ao ar. D'Urso *et al.* (1990) observaram efeito significativo da natamicina no aumento da estabilidade aeróbia na silagem de triticle. Recentemente, Pinto *et al.* (2013a) e Pinto *et al.* (2013b) verificaram aumento da estabilidade aeróbia e controle de leveduras em silagens de milho quando aditivadas com natamicina em combinação com *Lactobacillus buchneri*, considerando um aditivo com potencial para aumento da estabilidade aeróbia de silagens.

Em estudos realizados pela Agência Europeia de Avaliação de Produtos Medicinais (EAEMP, 1998), verificou-se a baixa absorção da natamicina pela mucosa gástrica e intestinal em mamíferos. O estudo foi realizado em bovinos fistulados e administrado a dose de 5000 mg de natamicina/animal/dia. Os resultados demonstraram a ausência dessa substância no sangue, urina e leite dos animais tratados, não sendo observada absorção pela mucosa. Desse fato, concluiu-se que a natamicina não possui efeito nocivo para os animais.

Diversos trabalhos baseados no desempenho animal são realizados para avaliar a eficiência de novos aditivos em silagens. Pedroso (2003) encontrou resultados satisfatórios no desempenho de novilhas alimentadas com silagens aditivadas em relação à silagem controle, obtendo aumento de até 6% no ganho de peso, além da melhora na conversão alimentar e consumo voluntário. Rowghani e Zamiri (2009), avaliando o efeito de aditivo químico em silagens de milho para vacas, observaram aumento da degradabilidade da matéria seca quando comparado com a silagem sem aditivo.

Estudos de desempenho animal que utilizam silagens aditivadas com natamicina são inéditos. O presente estudo tem por objetivo avaliar os efeitos da adição da natamicina na ensilagem de milho e o desempenho de cordeiros confinados com a silagem como fonte de volumoso.

5.1. MATERIAL E MÉTODOS

5.1.1. Descrição do experimento

O experimento foi realizado pelo Centro de Pesquisa em Forragicultura (CPFOR) nas instalações do Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos (LAPOC), da Universidade Federal do Paraná (UFPR), localizado no município de Pinhais, Paraná (25°25'S, 49°8'W, 930 m altitude).

A cultura do milho foi implantada no dia 29 de setembro do ano de 2012, em uma área de 0,22 ha, com espaçamento entrelinhas de 70 cm. Foi realizada adubação na semeadura com aplicação de 45 kg/ha de N, 80 kg/ha de P e 45 kg/ha de K₂O e na cobertura aos 40 dias de plantio com 105 kg/ha de N e 45 kg/ha de K₂O. O híbrido Pioneer[®] 32R22H utilizado para a produção da silagem possui ciclo superprecoce e característica *staygreen* marcante, tendo sido colhido após 101 dias da emergência, quando os grãos apresentavam deposição de amido em estágio equivalente à metade da “linha do leite”. A planta inteira de milho foi colhida com ensiladeira acoplada ao trator regulada para picagem em tamanho teórico médio de 10mm.

A forragem foi ensilada separadamente em três silos de superfície tipo trincheira (0,65m na base maior, 0,5m na base menor, 0,5m de altura e 12,5m de comprimento), revestidos internamente por lona plástica. Foram avaliados três tratamentos: C - Tratamento controle, sem aditivo; N4 - natamicina na dose de 4 g/ton de massa verde (MV); e N8 - natamicina na dose de 8g/ton de MV. Foi confeccionado um silo para cada tratamento (C, N4 e N8), enchidos simultaneamente. A forragem picada foi pesada em baldes de 100 L e depositada nos silos em camadas de 5 cm. Os tratamentos eram aspergidos com auxílio de pulverizador na proporção de 2,5 L de solução para cada tonelada de MV. O material foi homogeneizado utilizando material estéril e compactado por pisoteio humano. Os silos foram abertos após 170 dias de fermentação, sendo calculada massa específica após a abertura, de 850 kg de matéria verde (MV) por m³. Foram utilizados 30 cordeiros machos inteiros (White Dorper x Suffolk), desmamados aos 45 dias com peso médio de 18,3±3,3 kg. Os cordeiros foram alojados em um aprisco coberto e com as laterais abertas, em baias individuais (1,95 m²), com piso ripado de madeira, suspenso, providas de comedouro e bebedouro individual. Os animais foram dispostos em 10 blocos casualizados por peso vivo, sendo considerado cada animal como uma unidade experimental.

As rações isoproteicas e isoenergéticas (72% de NDT e 16% de PB) foram formuladas segundo exigências do NRC (1985), mantendo uma relação de volumoso: concentrado de 70:30, para um consumo esperado de 4% do peso vivo do animal em MS. O concentrado utilizado era composto (base seca) de 70,5% de farelo de soja; 19,5% de milho; 8,4% de núcleo mineral; 0,5% de bicarbonato de sódio e 1,1% de calcário calcítico, e apresentava 91% de MS, 35,7% de proteína bruta (PB), 76% de nutrientes digestíveis totais (NDT) e 20,8% de fibra em detergente neutro (FDN).

Inicialmente os animais foram pesados (jejum prévio de 12 horas), identificados, vermifugados e, após sorteio dos animais dentro dos blocos, colocados nas suas respectivas baias. Após o período de adaptação de 10 dias, os animais foram novamente pesados para início do período experimental (53 dias). Nesse momento realizou-se a determinação do escore de condição corporal (ECC) e análise ultrassonográfica da carcaça dos animais. Para o ajuste do consumo e monitoramento do ganho de peso, foram realizadas pesagens intermediárias a cada 15 dias e ao término do período de confinamento.

Foram realizadas diariamente avaliações clínicas nos animais, observando a consistência das fezes (consistente, pastosa, líquida) e possíveis alterações metabólicas. A inspeção da conjuntiva foi realizada em intervalos de 21 dias, pela avaliação do grau de anemia segundo o método Famacha[®] (Molento *et al.*, 2004).

As medições por ultrassom (Landwind C40[®]) foram realizadas no início e final do confinamento, após tosquia da região entre a 13^a costela e 1^a vértebra lombar, do lado esquerdo do animal. Utilizou-se gel próprio para ultrassom no dorso do animal para o acoplamento acústico (*standoff*) usando o transdutor linear de 5 MHz, disposto de maneira perpendicular ao comprimento do músculo *longissimus dorsi* para a tomada da imagem, sendo medido o comprimento e a profundidade máxima do músculo, expressas em centímetros (cm), além da espessura de gordura subcutânea, em milímetros (mm). A área de olho-de-lombo (cm²) foi calculada conforme descrito por Cezar e Souza (2007).

A taxa média de avanço dos três silos foi regulada para 20 cm diários, sendo descartadas porções de silagem degradada na superfície e laterais dos silos. Os animais receberam diariamente a ração total (silagem de milho + ração concentrada) em dois fornecimentos, nas proporções de 50:50 manhã: tarde. A silagem de milho e a ração concentrada foram pesadas individualmente para cada baia, misturadas e fornecidas *ad libitum* simultaneamente para todos os animais. As quantidades diárias foram ajustadas para permitir 10% de sobras.

Foram coletadas amostras semanais das sobras de cada baia para a determinação do teor de MS, e das silagens, para determinação de MS, pH e contagem de leveduras. Após secas e moídas, as amostras de sobras de cada semana foram proporcionalmente misturadas, formando uma amostra composta para cada baia, sendo utilizada para análises bromatológicas.

Foi calculado o ganho de peso médio diário (GMD) dos cordeiros, sendo o ganho total (GT) durante o experimento, dividido pelo número de dias avaliados, expresso em g/animal/dia. O consumo voluntário de MS (% PV ou kg/dia) e a conversão alimentar (CA - g/kg MS) foram calculadas considerando a quantidade de alimento fornecida e as sobras (base seca) diariamente. A composição da ração efetivamente consumida pelos animais foi obtida pela diferença entre a ração ofertada e as sobras.

5.1.2. Análises

As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da UFPR. O teor de MS foi determinado em estufa de circulação forçada a 55°C por 72 horas. As amostras secas foram moídas em moinho do tipo Willey com peneira de 1 mm de diâmetro. O teor de proteína bruta (PB) foi determinado pelo método de Dumas (Wiles *et al.*, 1998). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram avaliados de acordo com a metodologia de Van Soest *et al.* (1991) adaptada para ANKOM Fiber Analyzer (Holden, 1999). A hemicelulose (HEM) foi determinada pela diferença dos teores de FDN e FDA. A MS a 105°C e resíduo mineral (RM) foram processados segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002). O pH foi determinado em extrato aquoso por meio de potenciômetro (Kung Jr. *et al.*, 1984).

Para contagem de leveduras, as amostras foram embaladas a vácuo e encaminhadas imediatamente, sob-refrigeração, para o Laboratório de Microbiologia Veterinária da UFPR. O preparo das amostras consistiu em diluição prévia de 25g de silagem em 225 mL de solução salina estéril (8,5 g de NaCl por litro de água destilada), obtendo uma diluição de 1/10. Após a agitação durante 10 minutos, era realizada a filtragem da solução em papel filtro, e 1 mL do caldo obtido era retirado para as diluições em série (10^{-1} a 10^{-7}), em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina a 8,5%. O plaqueamento era realizado em triplicata pelo método pour-plate no meio de cultura de ágar Sabouraud (Himedia) com adição de 1 mL de ácido tartárico 10% para 100 mL de Agar, atingindo o pH ideal de 4,5. As placas eram incubadas em estufa BOD (26°C durante 72 a 144 horas). A contagem das leveduras foi expressa em unidades formadoras de colônias por grama de silagem (UFC/g), considerando o valor médio da contagem nas três placas.

5.1.3. Análise estatística

O delineamento experimental do ensaio de desempenho animal foi em blocos completos casualizados, com três tratamentos e dez blocos, totalizando 30 unidades experimentais (animais). Os dados foram analisados pelo programa Statistix 9.0, sendo avaliada a homogeneidade da variância pelo teste de Bartlett e a

normalidade pelo teste Shapiro Wilk. As variáveis homogêneas e com distribuição normal foram submetidas à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância. Os dados dos silos coletados semanalmente foram analisados por estatística descritiva, sendo os valores de microbiologia transformados em logaritmo na base dez (\log_{10}) por grama de massa verde (MV) de silagem.

5.2. RESULTADOS

A forragem no momento da ensilagem apresentava dessecação das brácteas e preenchimento de metade da linha do leite do grão. No entanto, o teor de MS verificado (22,5%) esteve bastante abaixo do recomendado, como efeito da característica *staygreen* marcante no híbrido utilizado. Em virtude disso, o teor de MS das silagens também apresentou valores baixos, não diferindo entre os tratamentos, com média de 22,1% de MS. A composição bromatológica das silagens do experimento está apresentada na Tabela 9.

Tabela 9. Médias e desvios padrão da composição química e contagem de leveduras das silagens de milho.

Variáveis ²	Tratamentos ¹			EPM	Média
	C	N4	N8		
MS, %	21,9±1,19	22,2±1,04	22,3±0,76	0,3212	22,1
PB, % da MS	7,8±0,32	7,9±0,34	7,9±0,30	0,1012	7,9
FDN, % da MS	48,2±2,40	48,2±1,45	49,0±1,58	0,5893	48,4
HEM, % da MS	18,6±2,18	19,4±1,80	19,9±1,41	0,5778	19,3
FDA, % da MS	29,5±2,30	28,8±1,64	29,1±1,85	0,6164	29,1
RM, % da MS	3,2±0,31	3,2±0,21	3,2±0,15	0,0744	3,2
pH	3,50±0,07	3,51±0,10	3,52±0,09	0,0289	3,51
Leveduras (Log UFC/g MV)	7,1±1,56	7,3±1,92	7,0±1,90	0,5703	7,1

¹C, Controle; N4, Natamicina 4g/ton de MV. N8, Natamicina 8g/ton de MV.

²MS, Matéria Seca; PB, Proteína Bruta; FDN, Fibra em Detergente Neutro; HEM, Hemicelulose; FDA, Fibra em Detergente Ácido; RM, Resíduo Mineral;

³EPM, Erro Padrão da Média.

A composição bromatológica média das silagens foi semelhante entre os tratamentos, com desvios padrão relativamente baixos entre as nove semanas de

coleta. O teor médio do FDN entre os tratamentos apresentou valor acima do esperado (48,4%). O desvio padrão das amostras de FDN do tratamento controle (2,4) foi maior em relação à dos outros tratamentos. O mesmo ocorrendo com os desvios padrão das variáveis HEM e FDA do tratamento controle, 2,18 e 2,30% respectivamente.

O pH das silagens do experimento esteve abaixo dos níveis normais para uma silagem de milho, apresentando média de 3,51 entre os tratamentos, durante as semanas avaliadas e semelhantes entre os tratamentos. A adição da natamicina não proporcionou efeito no controle do crescimento de leveduras nas silagens, com valores semelhantes de contagem nos tratamentos avaliados.

Na Tabela 10 está apresentada a composição química da ração efetivamente consumida pelos cordeiros durante o período experimental. Não foi verificado diferença da ração efetivamente consumida entre os tratamentos. O que mostra a ausência de seleção da dieta pelos animais. O teor médio de MS da ração efetivamente consumida ficou elevado pelo alto teor de MS do concentrado adicionado a dieta.

Tabela 10. Composição química da ração efetivamente consumida.

Variáveis ²	Tratamentos ¹			Média	EPM ³	P
	C	N4	N8			
MS, %	46,2	46,3	46,7	46,3	0,1873	0,2768
PB, % da MS	17,4	17,0	17,1	17,0	0,0737	0,4157
FDN, % da MS	39,1	37,9	38,3	38,0	0,1536	0,6125
HEM, % da MS	16,1	16,1	16,9	16,2	0,1556	0,2909
FDA, % da MS	20,8	21,8	21,9	21,2	0,3235	0,5605
RM, % da MS	7,3	7,1	7,2	7,1	0,0296	0,4076

¹C, Controle; N4, Natamicina 4g/ton de MV. N8, Natamicina 8g/ton de MV;

²MS, Matéria Seca; PB, Proteína Bruta; FDN, Fibra em Detergente Neutro; HEM, Hemicelulose; FDA, Fibra em Detergente Ácido; RM, Resíduo Mineral;

³EPM, Erro Padrão Médio.

O teor de PB da ração efetivamente consumida apresentou-se maior (17%) em comparação ao valor estimado da dieta fornecida (16%). Por sua vez, os teores de FDN (38,0%) e HEM (16,2%) da ração efetivamente consumida, apresentaram valores menores em relação à dieta fornecida aos animais de 40,2 e 17,0% respectivamente. Os teores de FDA, apresentou baixo teor na composição das rações efetivamente consumidas (21,2%).

Pela avaliação clínica diária dos animais, constatou-se que a natamicina não alterou o desempenho, estado fisiológico, metabólico e sanitário dos animais. Os cordeiros apresentaram valor médio de 3,5 no escore de condição corporal, com erro padrão médio de 0,06 entre os tratamentos. O grau de anemia dos animais não ultrapassou o valor 2 pelo método Famacha[®]. As variáveis de desempenho dos cordeiros estão apresentadas na Tabela 11.

Tabela 11. Desempenho de cordeiros confinados alimentados com diferentes silagens de milho.

Variáveis ²	Tratamentos ¹			EPM ³	P
	C	N4	N8		
GMD, kg	0,26	0,25	0,25	7,5890	0,6413
Ganho Total, kg	14,06	13,51	16,09	0,4023	0,6391
CA, consumo:ganho	3,20	3,27	3,34	0,0600	0,6139
Consumo MS, %PV	2,56	2,59	2,58	0,0384	0,9281
Consumo MS, kg/dia	0,85	0,83	0,83	0,0279	0,9428
AOL, cm ²	10,86	10,97	10,53	0,2661	0,7122
EG, mm	3,60	3,40	3,50	0,0115	0,7328

¹C, Controle; N4, Natamicina 4g/ton de MV. N8, Natamicina 8g/ton de MV.

²AOL, Área de olho de lombo; CA, Conversão Alimentar; ECC, Escore de Condição Corporal; EG, Espessura de Gordura; GMD, Ganho médio diário; PV, Peso Vivo; MS, Matéria Seca;

³EPM, Erro Padrão Médio.

A utilização das diferentes dosagens de natamicina na ensilagem de milho, não proporcionou diferença nos tratamentos para GMD (0,253 kg/dia) dos animais. O mesmo ocorreu para as variáveis, GT (14,5 kg) e CA (3,27 kg de MS/kgPV). Nas medições obtidas por ultrassom, não foram encontrados diferenças significativas entre os tratamentos para AOL e para EG, com média de 10,79 cm² e 3,5 mm respectivamente. O consumo de MS dos animais não foi afetado pela presença de natamicina nos tratamentos, com média de 2,58% PV e 0,84 kg de MS/dia.

5.3. DISCUSSÃO

O híbrido de milho utilizado na confecção das silagens apresentou características *staygreen* marcantes, pois mesmo verificando-se senescência das brácteas da espiga e preenchimento de metade da linha do leite nos grãos no

momento da colheita, a parte vegetativa das plantas apresentava-se com alta umidade. Carvalho (2013) afirma que com a utilização de híbridos com staygreen mais acentuado, a recomendação do corte da forragem de milho com metade da linha do leite, pode levar a baixos teores de MS nas silagens. O autor recomenda a realização do corte da forragem com 2/3 da linha do leite preenchida para esses híbridos de milho.

O baixo teor de MS da forragem utilizada (22,5%) está fora dos padrões normais para colheita e confecção de silagens de boa qualidade (Nussio *et al.*, 2001), que deveria estar entre 30 e 35%. Esse teor de MS baixo no momento da ensilagem gerou uma silagem com baixa MS em sua abertura (22,1%). Os dias que antecederam a colheita foram chuvosos e frios, o que dificultou a perda de água pela planta. O milho *staygreen* apresenta maturidade desigual para suas estruturas, ao mesmo tempo em que há o enchimento dos grãos da espiga, a haste e folhas da planta ainda possui alta umidade (Bekavak *et al.*, 1998; Arriola, 2006; Bekavak *et al.*, 2007), devido ao efeito retardado de senescência (Thomas e Howarth, 2000).

As diferentes dosagens de natamicina não afetaram a composição bromatológica das silagens. Os teores de FDN, HEM e FDA apresentaram valores maiores quando comparados com outros experimentos que utilizaram silagem de milho com teor de MS maior. Calsamiglia *et al.* (2007) avaliaram silagens de milho com teor de MS acima de 35% e verificaram teores médios de FDN e FDA de 39,9 e 19,6% respectivamente. De acordo com Filya (2004), conforme a maturidade e o teor de MS da planta, os teores de fibra na silagem podem apresentar diferenças significativas, sendo em silagens com maturidade menor e com baixos teores de MS, apresentam maiores teores de FDN, HEM e FDA. Entretanto, o mesmo autor mostra que apesar de aumentar os teores de fibra, o baixo teor de MS da forragem pode reduzir a digestibilidade dos componentes fibrosos das silagens.

O pH das silagens foi semelhante aos valores apresentados por Filya *et al.* (2006) e Filya (2004), que testaram silagens com baixo teor de MS, com utilização ou não de aditivos. Segundo os autores, por apresentar altas quantidades de carboidratos solúveis, as forragens com baixo teor de MS aceleram o processo de fermentação e favorece queda do pH em relação à silagens com alto teor de MS.

A capacidade das leveduras em metabolizar o ácido láctico em aerobiose promove o aumento do pH da silagem e iniciando a degradação (McDonald *et al.*, 1991). A contagem de leveduras das silagens apresentou valores 45,6% maiores

que os encontrados por Filya (2003) em silagens de milho. Isso se deve a maior exposição aeróbia das silagens durante o período experimental. Dolci *et al.* (2011) afirmam que grandes quantidades de carboidratos solúveis, ácido lático e ambiente aeróbio são fatores que aceleram o crescimento de leveduras na silagem. A possibilidade de haver altas taxas de ácido lático na silagem do ensaio é um fator a ser considerado no aumento do crescimento de leveduras, por ser ótima fonte de substrato. Filya (2003) afirma que em silagens com baixo teor de MS, a produção de ácido lático é maior, o pH é menor, o que favorece o crescimento de leveduras em relação à silagens de milho com alto teor de MS.

A adição da natamicina não foi efetiva em reduzir a população de leveduras no painel dos silos durante o período de avaliação. Possivelmente esse efeito foi devido a maior condição de exposição aeróbia das silagens produzidas em silos de grande escala. Woolford *et al.* (1980) utilizaram pimaricina (0,270 kg/ton) em silagens, e observaram baixa contagem de leveduras nas silagens de azevém, no entanto, sem efeito em silagens de milho. Conforme Pinto *et al.* (2013b) e dados apresentados no Capítulo I da presente dissertação, a natamicina quando adicionada isoladamente na dosagem de 8g/ton de MV na ensilagem de milho, não reduz a contagem de leveduras durante a estabilidade aeróbia. Provavelmente isso ocorre pela redução do composto da natamicina durante o período de fermentação. Segundo Brik (1981) a natamicina é degradada quase que em sua totalidade em pH abaixo de 4,5. Assim, esse aditivo é mais efetivo no controle da população de leveduras durante a fase fermentativa de produção das silagens. Ainda, Pinto *et al.* (2013a) mostram que apesar da natamicina isolada não apresentar efeitos de redução nas perdas de MS das silagens, sua adição combinada com *Lactobacillus buchneri* promove redução significativa nas perdas fermentativas.

Efeitos da adição de natamicina em silagens sobre o consumo e desempenho de animais de produção ainda não foram relatados na literatura. Os resultados da avaliação clínica dos animais mostraram que a natamicina não causou efeitos tóxicos nos animais que ingeriram a dieta contendo o produto, não sendo observadas alterações de coloração e consistência das fezes, sinais de redução da ruminação, tampouco, de timpanismo após o arraçoamento. Isso ocorre devido a natamicina ser considerada de baixa toxicidade para os animais, pela sua escassa absorção na parede intestinal (EFSA, 2009). Podendo ser considerado um produto seguro na conservação de alimentos para ruminantes.

O fornecimento de silagem aditivada com natamicina não prejudicou o consumo voluntário dos animais nem o ganho de peso dos mesmos. Resultado semelhante foi encontrado por Schmidt *et al.* (2007), onde mostraram que a utilização de determinados aditivos químicos como a uréia e o benzoato em silagens, não alterou o consumo de MS e digestibilidade quando comparado com a silagem sem aditivo. O consumo de MS em %PV (2,58%) apresentou resultados menores em relação aos encontrados por Ribeiro *et al.* (2002) que verificaram consumo de 3,15% do PV dos animais. Contudo, Ribeiro *et al.* (2003) afirmam que o baixo pH e a alta umidade da silagem podem reduzir o consumo de MS pelos animais. Provavelmente, esses fatores podem ser considerados relevantes para os resultados obtidos no presente experimento.

Os resultados da composição da ração efetivamente consumida pelos animais mostrou que não houve diferenças entre os tratamentos. O que indica que não houve efeito da natamicina na seleção da dieta pelos animais. No entanto, foi verificado em todos os tratamentos, aumento no teor de PB consumido pelos animais, observados 1,2 pontos percentuais acima da recomendação do NRC (1985), o qual estima a exigência de 16% de PB na dieta de cordeiros. A seleção pelo animal é um fator relevante para esse maior consumo de determinado componente na dieta.

O FDN efetivamente consumido do experimento foi menor (38%) em relação à dieta fornecida (40,2%). Isso indica que os animais exerceram seleção da dieta em todos os tratamentos e por sua vez, consumiram menor quantidade de FDN. Contudo, é mostrado que o animal possui uma habilidade de selecionar o alimento mais palatável e menos fibroso da dieta ofertada. Pinto *et al.* (2005) mostram que quanto menor a quantidade de FDN em alimentos, maior é o consumo de MS por ovinos, pois os ovinos tendem a selecionar componentes de melhor qualidade na alimentação segundo Santos *et al.* (2008).

Os resultados do consumo de PB e FDN foram inversamente proporcionais no consumo efetivo, quando o consumo de PB foi maior, o da FDN foi menor. Possivelmente a fração de FDN é um limitador de consumo das dietas (Schmidt, 2006), pela fermentação e passagem mais lenta desse componente pelo rúmen-retículo, indicativo de principal regulador de ingestão em dietas a base de forragem. A uniformidade da composição da ração efetivamente consumida pelos animais

entre os diferentes tratamentos mostra que, o fornecimento de ração permitindo 10% de sobras apresentou efeitos mínimos de seleção da dieta pelos animais.

O GMD verificado no experimento foi superior ao relatado na literatura para confinamento de cordeiros utilizando silagens de milho. Bueno *et al.* (2004) obtiveram ganho médio nos animais de 0,193 kg/dia e conversão alimentar de 3,49. Ribeiro *et al.* (2003) verificaram menor ganho médio diário (0,095 kg/dia) e pior conversão alimentar (4,88) quando comparado com os valores encontrados na presente pesquisa, que foram de 0,250 kg para GMD e 3,27 para CA. Ainda, Lombardi *et al.* (2010) utilizaram silagem de milho com adição de 1% de ureia na dieta de cordeiros e obtiveram ganho médio diário de 0,150 kg e consumo de MS de 3,97%PV. Contudo, a relação entre volumoso: concentrado, bem como a qualidade das silagens de milho, pode influenciar essas variáveis, além de idade, fatores genéticos e de manejo usados nos diferentes experimentos. Van Soest (1994) afirma que o peso corporal e o tamanho ruminal influenciam na capacidade de ingestão dos animais ruminantes. Quando o baixo consumo pelos animais é evidente em uma dieta com relação de volumoso: concentrado de 70: 30, a adição de maiores proporções de ração concentrada pode aumentar o consumo e melhorar o desempenho por animal (Camurça *et al.*, 2002).

A composição corporal dos animais, medida por ultrassom não foi afetada pelos tratamentos avaliados, não sendo verificadas diferenças de valores absolutos e alterações morfológicas na carcaça dos animais. Esse efeito é condizente com a ausência de respostas nas variáveis de consumo e desempenho animal. Os valores de AOL dos animais (10,78 cm²) foram discretamente menores em relação aos obtidos por Lombardi *et al.* (2010), que encontraram 11,95 cm² em cordeiros alimentados a base de silagem de milho em confinamento. Essa diferença pode ser devido ao peso, grupos raciais e idade dos animais dos dois estudos. Bueno *et al.* (2000) analisaram a área de olho de lombo e espessura de gordura de cordeiros abatidos em diferentes idades, sendo verificado aumento linear positivo com a idade de abate. Os dados de AOL encontrado pelos autores (9,2 cm²) corroboram com os encontrados no presente experimento, no entanto, a espessura de gordura entre os dois experimentos apresentam baixa relação. A espessura de gordura subcutânea encontrada no presente experimento foi semelhante aos valores obtidos por Sousa *et al.* (2008), (2,0 mm) que consideram como condição corporal gorda dos animais.

Embora os tratamentos estudados não tenham promovido diferenças no desempenho dos animais, os resultados são bastante positivos em demonstrar que a natamicina não deprime o consumo voluntário quando adicionada à silagem.

5.4. CONCLUSÃO

A adição de diferentes doses de natamicina na ensilagem de milho não foi eficiente em reduzir a população de leveduras após a abertura dos silos.

A presença da natamicina na silagem de milho da dieta, não indicou nenhum efeito negativo no consumo voluntário e desempenho dos cordeiros. Além de não ter sido verificado problemas metabólicos, fisiológicos ou sanitários nos animais durante o período experimental.

Novos estudos que avaliem a adição da natamicina em silagens e o fornecimento para animais são necessários para mensurar possíveis resíduos do produto na carne e leite e promover maior segurança na recomendação desse aditivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRIOLA K. G. (2006) Effect of stay-green ranking, maturity and moisture concentration of corn hybrids on silage quality and the health and productivity of lactating dairy cows. In: Florida: *Universidade of Florida, Thesis (Master in Science)*, 2006, 114p.

ÁVILA C. L. S., PINTO J. C., FIGUEIREDO H. C. P. and SCHWAN R. F. (2009) Effects of an indigenous and a commercial *Lactobacillus buchneri* strain on quality of sugar cane silage. *Grass and Forage Science*, **64**, 384–394.

BEKAVAC G., PURAR B., STOJAKOVICH M., JOCKOVICH D. J., IVANOVICH M. and NASTASIH A. (2007) Genetic analysis of stay-green trait in broad-based maize populations. *Cereal Research Communication*, **35**, 31–41.

- BEKAVAC G., STOJAKOVIC M., JOCKOVIC D., BOCANSKI J. and PURAR B. (1998) Path analysis of stay-green trait in maize. *Cereal Research Communications*, **26**, 161-167.
- BRIK H. (1981) Natamycin. In: FLORY K. (ed) *Analytical profiles of drug substances*. Academic Press, New York, 10, pp 513-561.
- BRUSTOLIN J. C. (2009) Uso da natamicina no controle do desenvolvimento de fungos em salame tipo italiano (Use of natamycin in controlling mold growth in Italian salami) In: Santa Maria: *Universidade Federal de Santa Maria, Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)*, 2009, 53p.
- BUENO M. S., CUNHA E. A., SANTOS L. E., RODA D. S. and LEINZ F. F. (2000) Características de carcaça de cordeiros Suffolk abatidos em diferentes idades (Carcass characteristics of Suffolk lambs slaughtered at different ages). *Journal Brazilian Animal Science*, **29**, 1803-1810.
- BUENO M. S., FERRARI Jr. E., POSSENTI R. A., BIANCHINI D., LEINZ F. F. and RODRIGUES C. F. C. (2004) Desempenho de cordeiros alimentados com silagem de girassol ou de milho com proporções crescentes de ração concentrada (Performance of sheep fed sunflower silage or corn silage with increasing proportion of commercial concentrate). *Journal Brazilian Animal Science*, **33**, 1942-1948.
- CALSAMIGLIA S., HERNANDEZ B., and PHIPPS R. (2007) Effects of corn silage derived from a genetically modified variety containing two transgenes on feed intake, milk production, and composition, and the absence of detectable transgenic deoxyribonucleic acid in milk in holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **90**, 4718-4723.
- CAMURÇA D. A., NEIVA J. N. M., PIMENTEL J. C. M., VASCONCELOS V R. and LÔBO R. N. B. (2002) Desempenho produtivo de ovinos alimentados com dietas à base de feno de gramíneas tropicais (Performance of Sheep Fed Tropical Grass Hay Based Diets). *Journal Brazilian Animal Science*, **31**, 2113-2122.
- CARVALHO S., PIRES C. C., PERES J. R. R., ZEPPENFELD C. and WEISS A. (1999) Desempenho de cordeiros machos inteiros, machos castrados e fêmeas, alimentados em confinamento (Performance of whole males lambs, castrated males lambs and females lambs, feed in confinement). *Ciência Rural*, **29**, 129-133.
- CARVALHO I. Q. (2013) Ponto de corte do milho para silagem. Fundação ABC. Disponível em: http://www.fundacaoabc.org.br/forragicultura/banco_forragens/Ponto_Corte_Silagem_Milho.pdf. Acessado em 23 de janeiro de 2014.
- CEZAR M.F. and SOUSA W. H. (2007) *Carcaças ovinas e caprinas: obtenção-avaliação-classificação (Sheep and goat carcasses: getting-review-rating)*. Uberaba, MG: Agropecuária Tropical.
- CRUZ B. C. C., SANTOS-CRUZ C. L., PIRES A. J. V., ROCHA J. B., SANTOS S., BASTOS M. and VIANA P. (2011) Desempenho, consumo e digestibilidade de cordeiros em confinamento recebendo silagens de capim elefante com diferentes

proporções de casca desidratada de maracujá (Performance, intake and digestibility of feedlot lambs receiving elephant grass silage with different proportions of dried peel of passion fruit). *Ciências Agrárias*, **32**, 1595-1604.

D'URSO G., AVONDO M., LICITRA G. and SINATRA M. C. (1990) Effetti dell'aggiunta di Na-bentonite, acido formico e pimaricina sulle caratteristiche di fermentazione e sul deterioramento aerobico degli insilati di tritcale (Effect of the addition of Na-Bentonite, formic acid and pimaricin on the fermentations characteristics and on the aerobic deterioration of tritcale silage), *Zootecnica e Nutrizione Animale*, **16**, 99-106.

DOLCI P., TABACCO E., COCOLIN L. and BORREANI G. (2011) Microbial dynamics during aerobic exposure of corn silage stored under oxygen barrier or polyethylene films. *Applied and Environmental*, **77**, 7499-7507.

DRIEHUIS F., OUDE ELFERINK S. J. W. H. and VAN WIKESLAAR P. G. (2001) Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic-acid bacteria. *Grass and Forage Science*, **56**, 330–343.

EAEMP. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (1998) EMEA/MRL/342/98-Final February. *Comitee for Veterinary Medicinal Products – Natamycin*, 1-4.

EFSA. European Food Safety Authority (2009) Scientific Opinion on the use of natamycin (E 235) as a food additive. *EFSA Journal*, **7**, 1-25.

FILYA I. (2003) The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages, **86**, 3575-3581.

FILYA I. (2004) Nutritive value and aerobic stability of whole crop maize silage harvested at four stages of maturity. *Animal Feed Science and Technology*, **116**, 141-150.

FILYA I. (2004) Nutritive value and aerobic stability of whole crop maize silage harvested at four stages of maturity. *Animal Feed Science and Technology*, **116**, 141-150.

FILYA I., SUCU E., KARABULUT A. (2006) The effects of *Propionibacterium acidipropionici* and *Lactobacillus plantarum*, applied at ensiling, on the fermentation and aerobic stability of low dry matter corn and sorghum silages. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **33**, 353-358.

HAVILAH E. J. and KAISER A. G. (1994) The 'stay-green' characteristic and maize silage production. In: BIRCH C. et al. *Proceedings of the Second Australian Maize Conference, Gatton, Queensland, 1994*, pp 209–212.

- HOFFMAN P. C. and OCKER S. M. (1997) Quantification of milk yield losses associated with feeding aerobically unstable high moisture corn. *Journal of Dairy Science*, **80**, p 234. (Abstract)
- HOLDEN L. A. (1999) Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *Journal of Dairy Science*, **82**, 1791-1794.
- HOLLAND C., KEZAR W. and QUADE Z. (1990) Pioneer Forage Manual – A Nutritional Guide. *Pioneer Hi-Bred International* pp 19–21.
- HONDRODIMOU O., KOURKOUTAS Y. and PANAGOU E. Z. (2011) Efficacy of natamycin to control fungal growth in natural black olive fermentation. *Food Microbiology*, **28**, 621-627.
- HOWARD T. and HOWARTH C. J. (2000) Five ways to stay green. *Journal of Experimental Botany*, **51**, 329-337.
- KUNG JR. L., TAYLOR C. C., LYNCH M. P. and NEYLOR, J. M. (2003) The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*, **86**, 336-343.
- KUNG Jr., L., GRIEVE, D. B., THOMAS, J. W. and HUBER J. T. (1984) Added ammonia or microbial inocula for fermentation and nitrogenous compounds of alfalfa ensiled at various percents of dry matter. *Journal of Dairy Science*, **67**, 299-306.
- LOMBARDI L., JOBIM C. C., BUMBIERIS JR. V. H., CALIXTO JR. M. and MACEDO F. A. F. (2010) Características da carcaça de cordeiros terminados em confinamento recebendo silagem de grãos de milho puro ou com adição de girassol ou ureia (Carcass characteristics of confinement-finished lambs fed on high moisture corn silage at different proportions). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, **32**, 263-269.
- MACEDO F. A. F, SIQUEIRA E. R. and MARTINS E. N. (2000) Análise econômica da produção de carne de cordeiros sob dois sistemas de terminação: pastagem e confinamento (Economical analysis of meat lamb production under two finishing systems: pasture and dry-lot). *Ciência Rural*, **30**, 677-680.
- McDONALD P., HENDERSON A. R. and HERON S. J. E. (1991) *Biochemistry of silage*. Marlow, UK: Chalcombe Publications.
- McGECHAN M. B. (1990) A review of losses arising during conservation of Grass forage: Part 2, storage losses. *Journal of Agricultural Engineering Research*, **45**, 1-30.
- MEDINA A., JIMENEZ M., MATEO R. and MAGAN N. (2007) Efficacy of natamycin for control of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains under different environmental conditions, *Journal of Applied Microbiology*, **103**, 2234–2239.

MOLENTO M. B., TASCA C., GALLO A., FERREIRA M., BONONI R. and STECCA E. (2004) Método Famacha como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes (Famacha guide as an individual clinic parameter for *Haemonchus contortus* infection in small ruminants). *Ciência Rural*, **34**, 1139-1145.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1985) *Nutrient Requirements of sheep*. Washington, USA: National Academy Press.

NUSSIO L. G., CAMPOS F. P. and DIAS F. N. (2001) Importância da qualidade da porção vegetativa no valor alimentício da silagem de milho. (Importance of quality vegetative parts in feed value of corn silage) In: JOBIM C. C., CECATO U., DAMASCENO J. C. and SANTOS G. T. *Anais do Simpósio Sobre Produção e Utilização de Forragens Conservadas*. Maringá, PR, Brazil, pp 127-145.

PEDROSO A. F. (2003) Aditivos químicos e microbianos no controle de perdas e na qualidade de silagem de cana-de-açúcar (Chemical and microbial additives to control losses and quality of sugar cane silage) *Animal Science and Pastures, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Tese (Doutorado em Agronomia)*, 2003, 120p.

PINTO C. W. C., SOUSA W. H., PIMENTA FILHO E. C., CUNHA M. G. G., GONZAGA NETO S. (2005) Desempenho de cordeiros Santa Inês terminados com diferentes fontes de volumosos em confinamento (Performance of Santa Inês lambs terminated with different forage source in feedlot). *Agropecuária Técnica*, **26**, 123–128.

PINTO S. (2014) Natamicina como aditivo para silagens de milho (Natamycin as additive for corn silages) In: Curitiba: *Universidade Federal do Paraná, Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)*, 2014, p.

PINTO S., NOVINSKI C. O., SOUZA C. M., WARTH J. F. G. and SCHMIDT P. (2013a) Fermentative losses of maize silage added with natamycin and lactobacillus buchneri. In: DANIEL J. L. P., SANTOS M. C. and NUSSIO L. G. (eds) *Proceedings of III International Symposium on Forage Quality and Conservation, Campinas, Brazil*, 2013, p73.

PINTO S., SCHMIDT P., NOVINSKI C. O., SOUZA C. M. and WARTH J. F. G. (2013b) Fermentative losses of maize silage added with natamycin and lactobacillus buchneri. In: DANIEL J. L. P., SANTOS M. C. and NUSSIO L. G. (eds) *Proceedings of III International Symposium on Forage Quality and Conservation, Campinas, Brazil*, 2013, p74.

REPS A., JEDRYCHOWSKI L., TOMASIK J. and WISNIEWSKA K. (2002) Natamycin in Ripening Cheeses, *Pakistan Journal of Nutrition*, **1**, 243-247.

RIBEIRO E. L. A., ROCHA M. A., MIZUBUTI I. Y. and SILVA L. D. F. (2002) Silagens de girassol (*Helianthus annuus* L.), milho (*Zea mays* L.) e sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) para ovelhas em confinamento (Silages of sunflower (*Helianthus annuus* L.),

corn (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) for ewes in feedlot). *Ciência Rural*, **32**, 299-302.

RIBEIRO E. L. A., ROCHA M. A., MIZUBUTI I. Y., SILVA L. D. F., FISCHER S. R. and SILVA A. P. (2003) Desempenho de cordeiros desmamados aos 67 dias alimentados com silagem de milho e feno de aveia (Performance of lambs weaned at 67 days of age and fed corn silage and oat hay). *Ciências Agrárias*, **24**, 85-92.

ROWGHANI E. and ZAMIRI M. J. (2009) The effects of a microbial inoculant and formic acid as silage additives on chemical composition, ruminal degradability and nutrient digestibility of corn silage in sheep. *Iranian Journal of Veterinary Research*, **10**, 110-118.

SANTOS G. R. A., BATISTA A. M. V., GUIM A., SANTOS M. V. F. S., SILVA M. J. A. and PEREIRA V. L. A. (2008) Determinação da composição botânica da dieta de ovinos em pastejo na Caatinga (Evaluation of botanical composition of sheep diet in Caatinga pasture). *Journal Brazilian Animal Science*, **37**, 1876-1883.

SCHMIDT P. (2006) Perdas fermentativas na ensilagem, parâmetros digestivos e desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo silagens de cana-de-açúcar (Fermentative losses on ensiling, digestive parameters and performance of beef bulls fed sugar cane silage containing rations) In: Piracicaba: Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Tese (Doutorado em Agronomia), 2006, 229p.

SCHMIDT P., MARI L. J., NUSSIO L. G., PEDROSO A. F., PAZIANI S. F. and WECHSLER F. S. (2007) Aditivos químicos e biológicos na ensilagem de cana-de-açúcar. 1. Composição química das silagens, ingestão, digestibilidade e comportamento ingestivo (Chemical and biological additives in the ensiling of sugar cane. 1. Chemical composition, dry matter intake, digestibility and ingestive behavior). *Journal Brazilian Animal Science*, **36**, 1666-1675.

SCHMIDT P., NOVINSKI C. O., CARNEIRO E. W. and BAYER C. (2012) Greenhouse gas emissions from fermentation of corn silage. In: KUOPPALA K., RINNE M. AND VANHATALO A. (eds) XVI International Silage Conference, Hämeenlinna, Finland, 2012, 428p.

SILVA D. J. and QUEIROZ A. C. (2002) *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. Viçosa, MG: UFV Publications.

SIQUEIRA E. R., AMARANTE A. F. T. and FERNANDES, S. (1993) *Estudo comparativo da criação de cordeiros em confinamento e pastagem (Comparative study of lambs reared in feedlot and on pasture)*. Revista Veterinária e Zootecnia, **5**, 17-28.

SOUSA W. H., CARTAXO F. Q., CEZAR M. F. GONZAGA NETO S., CUNHA M. G. G. and SANTOS N. M. (2008) Desempenho e características de carcaça de cordeiros terminados em confinamento com diferentes condições corporais (Performance and carcass traits of lambs finished in feedlot with different body conditions). *Journal Brazilian Animal Science*, **9**, 795-803.

VAN SOEST P. J. (1994) *Nutritional ecology of the ruminant*. London, UK: Cornell University.

VAN SOEST P. J., ROBERTSON J. B. and LEWIS B. A. (1991) Methods for dietary fibre, neutral-detergent fibre and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, **74**, 3583–3597.

VAN SOEST, P. J. (1994) Intake. IN: *Nutritional ecology of the ruminant*. 2 ed., Cornell University Press.

WELSCHER Y. M., HENDRIK H. N., BALAGUE M. M., SOUZA C. M., RIEZMAAN H., KRUIJFF B. and BREUKINK E. (2008) Natamycin blocks fungal growth by binding specifically to ergosterol without permeabilizing the membrane. *The Journal of Biological Chemistry*, **283**, 6393-6401.

WILES P. G., GRAY I. K. and KISSLING R. C. (1998) Routine analysis of protein by Kjeldahl and Dumas methods: review and interlaboratory study dairy products. *Journal of AOAC International*, **81**, 620-632.

WILKINSON J. M. and DAVIES D. R. (2012) The aerobic stability of silage: key findings and recent developments. *Grass and Forage Science*, **68**, 1-19.

WILKINSON J. M. and HILL J. (2003) Effect on yield and dry-matter distribution of the stay-green characteristic in cultivars of forage maize grown in England. *Grass and Forage Science*, **58**, 258–264

WOOLFORD M. K., COOK J. E., HALL D. M. and BONIS A. (1980) The use of pimaricina as an additive to improve the aerobic stability of silage. *Journal Science Food Agriculture*, **31**, 558-566.

WOOLFORD M. K. (1990) The detrimental effects of air on silage. *Journal Applied Bacteriology*, **68**, 101-116.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A necessidade de minimizar as perdas no processo de produção de silagens traz a importância do constante estudo de aditivos e melhoradores da fermentação. O impacto negativo que as leveduras exercem sobre as perdas e qualidade das silagens, é bem relatado na literatura. Portanto, aditivos que tenham a capacidade de reduzir esses efeitos são frequentemente avaliados na produção de forragens conservadas.

A adição da natamicina em associação com o *Lactobacillus buchneri* no processo de ensilagem de milho é uma alternativa rentável da combinação de aditivo microbiano com antibiótico, em decorrência da diminuição das perdas de matéria seca durante o processo fermentativo da silagem e forte ação sinérgica dos dois produtos. Contudo, a viabilidade econômica dessa combinação não pode ser desconsiderada, e as dosagens utilizadas nos experimentos dessa dissertação foram estipuladas considerando-se essa variável.

A utilização de aditivos antibióticos na conservação de forragens gera algumas dúvidas a respeito do impacto sobre a saúde dos animais. Aliados aos registros de baixíssima absorção da natamicina por mamíferos, o consumo e o desempenho de cordeiros confinados e alimentados com silagem de milho, não foi prejudicado pela substância.

A natamicina poderá ser usada na composição de novos aditivos, que vêm de encontro com as necessidades na área de produção e conservação de forragens, em virtude de, sua capacidade em modificar a fermentação e inibir leveduras, em conjunto com sua inocuidade no desempenho animal e custo competitivo aos aditivos encontrados no mercado atual.